



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología

**Calidad microbiana y listeria monocytogenes en
ensaladas expendidas en pollerías del distrito de los
Olivos – Lima, Perú**

TESIS

**Para optar el Título Profesional de Bióloga Microbióloga
Parasitóloga**

AUTOR

Jaqueline Getrudis SOBERON AMADO

ASESOR

Carmen Rosa MÉNDEZ FARRO

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Soberon J. Calidad microbiana y listeria monocytogenes en ensaladas expendidas en pollerías del distrito de los Olivos – Lima, Perú [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología; 2017.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ACTA DE SESIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGA MICROBIÓLOGA PARASITÓLOGA
(MODALIDAD: SUSTENTACIÓN DE TESIS)

Siendo las 3:15 horas del 19 de mayo de 2017, en el Salón de Grados de la Facultad de Ciencias Biológicas y en presencia del jurado formado por los profesores que suscriben, se dio inicio a la sesión para optar al Título Profesional de Bióloga Microbióloga Parasitóloga de JAQUELINE GETRUDIS SOBERON AMADO.

Luego de dar lectura y conformidad al expediente N° 012-EPMP-2017, el titulado expuso su tesis: "CALIDAD MICROBIANA Y *Listeria monocytogenes* EN ENSALADAS EXPENDIDAS EN POLLERÍAS DEL DISTRITO DE LOS OLIVOS - LIMA, PERÚ" y el Jurado efectuó las preguntas del caso calificando la exposición con la nota 20, calificativo: Sobresaliente con mención.

Finalmente, el expediente será enviado a la Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología, y al Consejo de Facultad para que se apruebe otorgar el Título Profesional de Bióloga Microbióloga Parasitóloga a JAQUELINE GETRUDIS SOBERON AMADO y se eleve lo actuado al Rectorado para conferir el respectivo título, conforme a ley.

Siendo las 4:05 horas se levantó la sesión.

Ciudad Universitaria, 19 de mayo de 2017.

Dr. ABAD FLORES PAUCARIMA
(PRESIDENTE)

Mg. CARMEN MENDEZ FARRO
(ASESORA)

Dr. GERMAN VERGARAY ULFFE
(MIEMBRO)

Mg. YOLANDA MORANTE OLIVA
(MIEMBRO)

AGRADECIMIENTOS

A Dios por protegerme.

A mis padres por su cariño, apoyo y comprensión en cada momento de mi vida, especialmente en esta etapa donde fueron mi soporte y motivación.

A mi asesora la Mag. Carmen Rosa Méndez Farro del Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos y Aguas de la Facultad de Ciencias Biológicas – UNMSM por su valiosa asesoría en la realización de este estudio y por compartir conmigo sus conocimientos para mi formación como profesional.

Al Dr. Germán Vergaray Ulffe por abrirme las puertas de su laboratorio y por el respaldo brindado durante la realización de este proyecto.

A la Dra. Betty Urbina de la Subgerencia de Prevención y Promoción de la Salud de la Municipalidad de Los Olivos por las facilidades que me brindo durante la inspección y toma de muestra de las pollerías.

A Elizabeth Soberon por brindarme su apoyo en la ejecución del proyecto.

A Yerson Soberon por el apoyo en el análisis estadístico.

A los integrantes del Laboratorio de Control de Calidad de Alimentos y Aguas, especialmente a Roger Gamboa por su valiosa asesoría y colaboración y a Joceline Navarro por su amistad y palabras de aliento a lo largo de la realización del proyecto.

ÍNDICE GENERAL

I. Introducción	1
II. Marco Teórico	2
1. Microorganismos indicadores de la calidad microbiana de ensaladas	2
1.1. Aerobios Mesófilos.	2
1.2. Coliformes Totales	2
1.3. <i>Escherichia coli</i>	3
1.4. <i>Salmonella</i> sp.	3
1.5. <i>Staphylococcus aureus</i>	4
1.6. Normativa para la contaminación microbiológica	5
2. <i>Listeria monocytogenes</i> en las ensaladas	6
2.1. Fuentes de contaminación	7
3. Enfermedades ocasionadas por <i>L. monocytogenes</i>	7
3.1. Generalidades	7
3.2. Síndromes	8
3.3. Factores de virulencia	12
3.4. Serotipos	12
III. Objetivos	14
IV. Material y Métodos	16
V. Resultados	27
VI. Discusión	58
VII. Conclusiones	65
VIII. Recomendaciones	67
IX. Referencias Bibliográficas	68
X. Anexos	77

RESUMEN

En el Perú no se tiene suficiente información sobre la incidencia de enfermedades asociadas al consumo de ensaladas frescas, ni sobre la frecuencia de las bacterias patógenas en las ensaladas (Fernández, 2000) ni el comportamiento de los microorganismos patógenos de importancia en las ensaladas; por lo cual se considera necesario determinar la presencia de dichos microorganismos y en particular de *Listeria monocytogenes* en las ensaladas.

En el presente trabajo, se escogieron al azar 83 pollerías del distrito “Los Olivos”; en cada una de ellas se tomó una muestra de ensalada, a la que se le efectuó el análisis microbiológico. Para el análisis microbiológico se tomó en consideración la Norma Técnica Peruana N° 071 (MINSA/DIGESA, 2003). Para el recuento de bacterias Aerobias mesófilas se utilizó el método de ICMSF- 2000; para la numeración de Coliformes totales y *Escherichia coli*, recuento de *Staphylococcus aureus*, detección de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* sp. se emplearon los métodos de FDA-BAM. Se demostró que el 96,39% (80) de las muestras de ensaladas eran “no aptas” para el consumo humano, el 84,34% (70) presentó más de 10^5 UFC/g de Aerobios Mesófilos, el 95,18% (79) más de 10^2 NMP/g de Coliformes totales, el 24,10% (20) más de 10 NMP/g de *E. coli*, y el 21,69% (18) más de 10 UFC/g de *S. aureus*. Respecto a las bacterias patógenas, el 7,23% (06) presentó *Listeria* spp. siendo el 3,61% (03) *Listeria monocytogenes* y el 14,46% (12) a *Salmonella* sp.

Los resultados obtenidos, demuestran que un elevado porcentaje de ensaladas frescas que se expenden en las pollerías del distrito “Los Olivos” es “no apto” para el consumo humano, y un porcentaje significativo está contaminado con microorganismos patógenos, constituyendo un serio riesgo para la salud de los comensales.

Palabras Clave: Calidad microbiana, Ensaladas frescas, Pollerías, Bacterias patógenas.

ABSTRACT

In Peru, there is not enough information on the incidence of diseases associated with the consumption of fresh salads, nor on the frequency of pathogenic bacteria in the salads (Fernández, 2000) nor the behavior of pathogenic microorganisms of importance in the salads; it is considered necessary to determine the presence of said microorganisms and in particular of *Listeria monocytogenes* in the salads.

In the present work, 83 pollerías from the district "Los Olivos" were randomly selected; in each one of them a sample of salad was taken, to which the microbiological analysis was carried out. For the microbiological analysis, Peruvian Technical Standard N° 071 (MINSA / DIGESA, 2003) was taken into account. For the counting of Aerobias mesófilas bacteria the ICMSF-2000 method was used; for the numbering of total Coliforms and *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* count, detection of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* sp. The FDA-BAM methods were used. It was demonstrated that 96.39% (80) of the salads samples were "not suitable" for human consumption, 84.34% (70) had more than 10^5 UFC/g of Mesophilic Aerobes, 95.18% (79) over 10^2 NMP/g of total Coliforms, 24.10% (20) more than 10 NMP/g *E. coli*, and 21.69% (18) more than 10 UFC/g *S. aureus*. Regarding pathogenic bacteria, 7.23% (06) presented *Listeria* spp. being 3.61% (03) *Listeria monocytogenes* and 14.46% (12) to *Salmonella* sp.

The results obtained, demonstrate that a high percentage of fresh salads which are sold in the pollerías of the district of the "Los Olivos" is "not suitable" for human consumption, and a significant percentage is contaminated with pathogenic microorganisms, constituting a serious risk to the health of the diners.

Key words: Microbial quality, Fresh salads, Pollerías, Pathogenic bacteria

I. INTRODUCCIÓN

Debido al incremento de la frecuencia de infecciones ocasionadas por microorganismos patógenos transmitidos por hortalizas que se ingieren crudas y al no tener suficiente información en el Perú sobre la incidencia de enfermedades asociadas al consumo de ensaladas, ni sobre la frecuencia de las bacterias patógenas en las mismas, consideramos como problema de investigación el desconocimiento de que la calidad Higiénico - Sanitaria de las ensaladas que se ingieren como acompañantes del “Pollo a la Brasa” en el distrito de Los Olivos, Lima – Perú, si están o no contaminadas con microorganismos entéricos y/o *Listeria monocytogenes*.

Se decidió realizar la investigación en el distrito de Los Olivos, por ser uno de los más populosos (318,140 habitantes), tener un alto número de pollerías (181 pollerías), ser el tercer distrito de Lima Norte con mayor posibilidad de implementar pollerías ($w \times p = 3,65$) (Solís y Almonacid, 2013) y tener un elevado porcentaje (32,61%) de pollerías que han sido sancionadas por carecer del certificado de capacitación en manipulación de alimentos y por no poseer o tener vencido el carnet sanitario, según la Gerencia de Fiscalización y Control Urbano de la Municipalidad de Los Olivos.

Por lo tanto se considera necesario determinar la calidad microbiana y la presencia de *Listeria monocytogenes* en ensaladas frescas; ya que, con esta información será posible desarrollar métodos tendientes a prevenir, disminuir y controlar las enfermedades infecciosas asociadas al consumo de ensaladas. Es así que se escogieron al azar 83 pollerías; en cada una de ellas se tomó una muestra de ensalada, a la que se le efectuó el análisis microbiológico.

II. MARCO TEORICO

1. Microorganismos indicadores de la calidad microbiana de ensaladas

1.1. Aerobios Mesófilos

En este grupo se incluyen todas las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse a 30° C en las condiciones establecidas (Cano, 2006).

Las especies encontradas en los alimentos son generalmente amplias y no poseen un hábitat definido y en general no provocan enfermedades en el ser humano (Vanderzant y Splittstoesser, 1992).

En el recuento de aerobios mesófilos, se estima la microflora total sin especificar tipos de microorganismos. Un recuento bajo no implica o no asegura la ausencia de patógenos o sus toxinas, de la misma manera un recuento elevado no significa presencia de flora patógena (Cano, 2006).

1.2. Coliformes Totales

El grupo Coliformes totales incluye una amplia variedad de bacilos aerobios y anaerobios facultativos, Gram negativos y no esporulantes capaces de proliferar en presencia de concentraciones relativamente altas de sales biliares fermentando la lactosa y produciendo ácido o aldehído en 24 horas a 35-37°C (Coral, 2014).

Dentro de los Coliformes totales encontramos al subgrupo *Escherichia coli* y Coliformes termotolerantes que son capaces de fermentar la lactosa a temperaturas más altas (OMS, 2006). Se encuentran en el intestino del hombre y de los animales, y también en el suelo, plantas, etc. No son muy buenos como indicadores, pero se utilizan como indicadores de contaminación fecal y de un proceso o estado sanitario poco satisfactorio (Cano, 2006).

1.3. *Escherichia coli*

Escherichia coli forma parte de la familia Enterobacteriaceae y es capaz de producir indol, a partir de triptófano, en 21 ± 3 horas a $44 \pm 0.5^\circ\text{C}$ (Paredes, 2014). También posee la enzima B-Galactosidasa, que reacciona positivamente en el ensayo del rojo de metilo y puede descarboxilar el ácido L-Glutámico, pero no es capaz de usar citrato como única fuente de carbono o de crecer en caldo con cianuro de potasio (KCN) (Millipore, 2005).

Es un indicador ideal de contaminación fecal porque está presente universalmente en las heces y en las aguas residuales, no puede crecer en las aguas naturales y es fácilmente detectable por métodos rápidos (Environment Agency, 2002). Muchas cepas de *E. coli* son causantes de enfermedades en humanos y animales (Paruch y Maehlum, 2012).

1.4. *Salmonella* sp.

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae. Son bacilos Gram negativos móviles que no fermentan la lactosa, aunque la mayoría producen sulfuro de hidrógeno a partir de aminoácidos azufrados o gas por fermentación de los hidratos de carbono. Inicialmente, se agruparon en más de 2000 especies (serotipos) en función de sus antígenos somáticos (O) y flagelares (H) (Coral, 2014).

Actualmente se considera que esta clasificación está por debajo del nivel de especie: en realidad sólo hay dos o tres especies (*Salmonella enterica* o *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella bongori* y *Salmonella typhi*) y los serotipos se consideran subespecies. Todos los agentes patógenos entéricos, excepto *S. typhi*, pertenecen a la especie *S. enterica* (Coral, 2014).

Las frutas y verduras han ganado notoriedad en años recientes como fuentes de salmonelosis humana. Esto se presenta como una consecuencia de diversos factores tales como: la fertilización de sembradíos con lodos sin tratamiento o efluentes de drenajes potencialmente contaminados con *Salmonella* spp. resistentes a antibióticos, la irrigación de los campos y el lavado de frutas y verduras con aguas contaminadas, la manipulación excesiva por los trabajadores, la exposición a la contaminación ambiental de especias y condimentos durante el secado y la resistencia del microorganismo a valores de pH bajos (Hammer et al., 1999; Sacaquispe y Velásquez, 2002; Müller, 1981; Nelson, 2008; Inouye, 2001).

Las salmonelosis típicamente producen cuatro manifestaciones clínicas: gastroenteritis (que va desde diarrea leve a diarrea fulminante, náuseas y vómitos), bacteriemia o septicemia (accesos de fiebre alta con hemocultivos positivos), fiebre tifoidea o paratifoidea (fiebre continua con o sin diarrea) y la condición de portadoras de personas infectadas anteriormente (Coral, 2014).

1.5. *Staphylococcus aureus*

Es una bacteria con morfología microscópica típica de cocos Gram positivos agrupados en racimos de tamaño entre 0,5 a 1,5 µm, no esporulada (asporógena) e inmóvil. Por lo general, las cepas productoras de coagulasa son termonucleasa positiva (Doyle et al., 2001a).

Su distribución en el medio ambiente es muy amplia, se encuentra de forma natural en el hombre, los animales de granja, el polvo y diversos alimentos y otros productos en los que la contaminación se debe principalmente a los manipuladores (Cano, 2006).

Es una bacteria ubicua y patógena que puede causar intoxicación alimentaria, se sabe que la mayoría de los brotes son originados por *Staphylococcus aureus* coagulasa positiva, ya que, muy pocas cepas coagulasa negativa son capaces de producir enterotoxinas (intoxicación alimentaria estafilocócica, IAE). Por ello, es importante mencionar que las enterotoxinas estafilocócicas son de las pocas toxinas bacterianas de naturaleza proteica, que presentan termorresistencia (Perdomo y Meléndez, 2004).

1.6. Normativa para la contaminación microbiológica

La normativa nacional tiene como objetivo establecer las condiciones microbiológicas de calidad sanitaria e inocuidad que deben cumplir los alimentos y bebidas en estado natural, elaborados o procesados, para ser considerados “aptos” para el consumo humano (MINSA/DIGESA, 2003).

Artículo 15°.- Criterios microbiológicos

Los alimentos y bebidas deben cumplir íntegramente con la totalidad de los criterios microbiológicos correspondientes a su grupo o subgrupo para ser considerados “aptos” para el consumo humano:

Tabla N° 1. Criterios microbiológicos para el grupo Alimentos Elaborados

ALIMENTOS ELABORADOS						
Comidas preparadas sin tratamiento térmico (ensaladas crudas , mayonesas, salsa de papa huancaína, ocopa, postres, jugos, otros). Comidas preparadas que llevan ingredientes con y sin tratamiento térmico (ensaladas mixtas, palta rellena, sándwiches, cebiche, postres, refrescos, otros).						
Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Limite por g. ó mL	
					m	M
Aerobios Mesófilos	2	3	5	2	10^5	10^3
Coliformes	5	3	5	2	10^2	10^3

<i>Staphylococcus aureus</i>	5	3	5	2	10	10 ²
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	10	10 ²
<i>Salmonella</i> sp.	10	2	5	0	Ausencia/25g	-----

Fuente: MINSA/DIGESA, 2003.

2. *Listeria monocytogenes* en las ensaladas

Listeria monocytogenes se encuentra muy difundida en la tierra, donde puede persistir durante mucho tiempo, por lo cual los vegetales crudos son vehículos potenciales de listeriosis humana. Uno de los primeros brotes relacionados con verduras, se dio en Canadá (1980), debido a una ensalada de coles, donde las coles habían sido conservadas en refrigeración por un periodo prolongado, factor que origino el crecimiento de *L. monocytogenes*. Dichas coles habían sido cultivadas en campos en los que habían pastado ovinos cuya materia fecal contaminao la tierra con *L. monocytogenes* (ICMSF, 2001; Michanie, 2004).

Entre los años 2010 al 2011, en un estudio para determinar la frecuencia de *L. monocytogenes* en hortalizas expandidas en tres mercados de Trujillo, se obtuvo que el 29,17% de 48 lechugas fue positiva a *L. monocytogenes* (Pérez y Chávez, 2012). Mientras que en el mismo año (De Oliveira *et al.*, 2011) informo que de 162 vegetales listos para consumir procedentes de Brasil, el 3,7% resultó positivo a *Listeria monocytogenes*.

En el 2012, en un estudio de 101 ensaladas mixtas procedentes de Portugal se reportó que el 1,32% presentó *L. monocytogenes* (Santos *et al.*, 2012). En contraposición Sant'Ana *et al.*, (2012) obtuvo que el 2% de 152 muestras de lechugas listas para consumir, procedentes de Brasil, fue positiva a *L. monocytogenes*, donde los aislados correspondieron al serotipo 4b.

El trabajo más reciente fue realizado por Gurler *et al.*, (2015) donde analizó a 261 ensaladas listas para consumir procedentes de Turquía reportando que el 5,7% tenía *L. monocytogenes*.

2.1. Fuentes de contaminación

La contaminación de las ensaladas se puede producir desde el riego de las hortalizas con aguas residuales domésticas, el abono con heces de humanos o animales, el lavado post-cosecha con agua contaminada, la deficiente protección durante el transporte y almacenamiento, y la inadecuada manipulación durante la preparación y expendio de las ensaladas (Whitfield, 1998).

3. Enfermedades ocasionadas por *L. monocytogenes*

3.1. Generalidades

Listeria monocytogenes es un bacilo corto Gram positivo, no esporulado, que mide entre 0,4 a 0,5 μm de diámetro y de 0,5 a 2 μm de largo, pueden ser curvos, con tendencia a agruparse en cadenas cortas, de extremos redondeados, y en algunas ocasiones pueden formar cocobacilos (Payán y Astudillo, 1994; Curtis y Lee, 1995; Harris, 2001).

Es una bacteria aerobia y anaerobia facultativa, pero su proliferación mejora cuando los cultivos se incuban con reducción de dióxido de carbono del 5 al 10%. La temperatura mínima de desarrollo de este microorganismo psicrotrófico es de $1.1 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$, la óptima de 30 a 37°C , y la máxima de 45°C . Puede crecer en un intervalo de pH amplio, desde 4.1 hasta alrededor de 9.6, sin embargo, su pH óptimo fluctúa entre 7.2 y 7.6 (Jay, 2002; Michanie, 2004).

A temperaturas entre 20 y 25°C son móviles por medio de 4 flagelos peritricos, pero a temperatura de 37°C solo forma un flagelo polar. Posee una motilidad

característica tipo “*tumbling*” o “volteo”, es decir, mediante un lanzamiento rápido combinado con saltos y rotación (De Curtis, 2002)

Tiene la capacidad de fermentar varios carbohidratos formando ácidos, es catalasa positivo, oxidasa negativo, voges proskauer positivo, rojo de metilo positivo e indol negativo, no produce ácido sulfhídrico, no reduce el nitrato y produce β -hemólisis en agar sangre, debido a la producción de listeriolisina O (exotoxina hemolítica y citolítica) (Jay, 2002).

3.2. Síndromes

L. monocytogenes ocasiona una amplia variedad de síndromes (Ver Tabla N° 2), los cuales fluctúan desde una enfermedad leve similar a la influenza -como en el caso de las mujeres embarazadas- hasta la listeriosis neonatal fulminante asociada a tasas de mortalidad de 54 a 90%. En el adulto, los principales síndromes son la meningitis (55%), bacteriemia primaria (25%), endocarditis (7%) y las infecciones no meníngeas del sistema nervioso central (6%). En tal contexto, más de la mitad de los de pacientes padece otras enfermedades previas o se encuentra recibiendo fármacos inmunosupresores (Dorozynski, 2000; Payán y Astudillo, 1994; Hof *et al.*, 1997; Julián *et al.*, 2001).

Tabla N° 2. Principales síndromes debidos a *Listeria monocytogenes*

(Schlech y Acheson, 2000; Hof *et al.*, 1997).

Síndrome clínico	Hospedero: gravedad
Infecciones durante el embarazo	Mujeres embarazadas: enfermedad febril a enfermedad severa.
Granulomatosis infantiséptica	Neonatos: infección intraútero / grave, enfermedad temprana.
Septicemia	Neonatos o adultos: enfermedad moderada a severa.

Meningoencefalitis, cerebritis, romboencefalitis	Neonatos o adultos: enfermedad moderada a severa.
Infecciones focales*	Adultos o niños: por contacto directo o bacteriemia.

* Incluye infecciones cutáneas, oculares, endocarditis, hepatitis, osteomielitis, abscesos cerebrales y hepáticos, peritonitis y gastroenteritis.

▪ **Infecciones durante el embarazo**

Éstas se adquieren más frecuentemente en el tercer trimestre (coincidiendo con la mayor declinación de la inmunidad celular) y, en general, las pacientes presentan síntomas transitorios, inespecíficos, leves a moderados, que incluyen fiebre, cefalea, dorsalgia y trastornos gastrointestinales tales como náuseas, vómito, dolor abdominal y diarrea. En tal sentido, es común que la enferma no acuda a consulta médica (Payán y Astudillo, 1994; Hof *et al.*, 1997).

Cuando la infección tiene lugar al inicio del embarazo, el aborto ocurre durante el quinto o sexto mes; sin embargo, también existe la posibilidad de que la gestación llegue a su término, a pesar de que son más frecuentes los nacimientos prematuros. En todo caso, el producto suele salir sin vida o manifestar una granulomatosis generalizada, aunque algunos reportes hacen referencia a cierta cantidad de niños saludables provenientes de madres infectadas que recibieron tratamiento alguno. Por otra parte, se han publicado trabajos en los que se alude a la persistencia del microorganismo (después de la terapéutica) en los genitales de la mujer, situación que puede conducir a abortos reiterados (Hof *et al.*, 1997; Lyytikäinen *et al.*, 2000).

▪ **Granulomatosis infantiséptica**

En los neonatos, *L. monocytogenes* es causa de sepsis en 2 modalidades clínicas: la primera, con un periodo de incubación de 1.5 días, se origina en el útero y se traduce en abortos, alumbramiento de productos muertos o partos

premalturos asociados a neonatos que padecen de granulomatosis infantiséptica, grave afección ocasionada exclusivamente por *L. monocytogenes*. La segunda modalidad se presenta después de la primera semana de vida, casi siempre como una meningitis sin características clínicas específicas; es decir, se adquiere a partir de la madre, pero durante o después del nacimiento (no intraútero) (Pay n y Astudillo, 1994).

En la granulomatosis infantiséptica el infante presenta abscesos diseminados y/o granulomas en múltiples órganos internos, incluyendo hígado, bazo, pulmones, ri n y cerebro; además, el niño nace en estado de muerte aparente, con rinitis purulenta, erupción cutánea y hasta nódulos faríngeos. Este tipo de infección se observa dentro de los primeros cuatro días de vida, suele asociarse a meningitis y su pronóstico es malo, con tasas de mortalidad cercanas al 100% (Pay n y Astudillo, 1994; Mirón *et al.*, 2002).

- **Septicemia.**

La septicemia afecta a neonatos y adultos, quienes evidencian notables episodios de escalofrío y fiebre. En los adultos, la mayoría de los casos se relaciona con personas inmunocomprometidas, en quienes a menudo cursa en forma fulminante; por su parte, los neonatos empiezan a manifestarla después de los 3 días de edad con un cuadro inespecífico, por lo cual se corre el riesgo de tratarla empíricamente sin eficacia terapéutica alguna (Schlech y Acheson, 2000; Mirón *et al.*, 2002).

- **Meningoencefalitis, cerebritis y romboencefalitis**

En años recientes *L. monocytogenes* se ha erigido en una de las principales causas de meningitis, afectando sobre todo a neonatos y adultos inmunocomprometidos; corresponde a una patología supurativa aguda, en la cual la linfocitosis del LCR y los signos clínicos llegan a sugerir una meningitis

tuberculosa. La enfermedad con frecuencia cursa como meningoencefalitis y rara vez como encefalitis (Mirón *et al.*, 2002).

Clínicamente, la meningoencefalitis se caracteriza por fiebre, cefalea y alteraciones de la conciencia; la aparición de los síntomas suele ser abrupta y la rigidez de nuca está ausente en casi la mitad de los pacientes, particularmente cuando se trata de personas muy ancianas o inmunocomprometidas. Con frecuencia se observan convulsiones y otros signos tales como ataxia, hemiparesia y parálisis de los pares craneales, manifestaciones que reflejan una romboencefalitis; ésta corresponde a la afectación del tronco cerebral y suele coexistir con la inflamación meníngea (Julián *et al.*, 2001).

En cuanto a la cerebritis y romboencefalitis, la primera puede evolucionar originando uno o más abscesos cerebrales, que tienden a crecer progresivamente, por lo que el tratamiento debe ser oportuno; el paciente experimenta cefalea, fiebre y hasta algún grado de parálisis. Por su parte, en la romboencefalitis (afectación del tronco cerebral), además de los síntomas anteriores, destaca un vómito continuo debido a la parálisis progresiva (Mirón *et al.*, 2002).

- **Infecciones focales.**

Las infecciones cutáneas debidas a *L. monocytogenes* parecen relacionarse más frecuentemente con la granulomatosis infantil. Las lesiones ulcerativas no se distinguen de las de otros orígenes, por lo cual es necesario el cultivo de las muestras para establecer el diagnóstico (Hof *et al.*, 1997).

Con respecto a las infecciones oculares, éstas pueden ser consecuencia de la granulomatosis infantiséptica, o derivadas de la presencia del microorganismo en la vagina materna o en el líquido amniótico. Por su parte, la peritonitis bacteriana espontánea (PBE) corresponde a una grave complicación que afecta a los

pacientes con descompensación hidrónica asociada a cirrosis hepáticas de diferentes etiologías. La PBE es muy rara y sólo afecta a pacientes inmunocomprometidos con enfermedades subyacentes (Hof *et al.*, 1997).

3.3. Factores de virulencia

En *L. monocytogenes*, la patogenidad obedece a una serie de factores de virulencia tales como la listeriolisina O, internalinas, fosfolipasas, proteína de superficie p104, metaloproteasas, proteína Act A, proteasas Clp, proteína p60 (Doyle, 2001; Michanie, 2004; Doyle *et al.*, 2001a).

Cuando *L. monocytogenes* atraviesa la barrera intestinal en los animales e individuos infectados por la vía oral, se adhiere a la mucosa intestinal, posiblemente son los residuos de α -D-galactosa de la superficie bacteriana los que se unen a sus receptores de las células intestinales, e invaden las células de la mucosa. Las bacterias se incorporan por fagocitosis inducida, al ser fagocitadas por los pseudópodos de las células epiteliales, formándose la correspondiente vesícula. *L. monocytogenes* es encerrada y rodeada de una membrana vesicular, la que rompe utilizando hemolisina O, en menos de 30 minutos. Las bacterias intracelulares quedan libres en el citoplasma de la célula hospedera y comienzan a multiplicarse rápidamente con un tiempo de duplicación de aproximadamente 1 hora (Forsythe, 2000; Doyle *et al.*, 2001a).

La bacteria también produce catalasa y superóxido dismutasa que la protege de la “explosión” oxidativa del fagosoma. *L. monocytogenes* elabora asimismo dos fosfolipasas C, enzimas que rompen membranas de las células hospederas al hidrolizar sus lípidos, como el fosfatidilinositol y fosfatidilcolina (Jay, 2000).

3.4. Serotipos

En base a sus antígenos somáticos y flagelares se ha identificado 13 serotipos que pueden provocar enfermedad pero el 95% de los aislamientos humanos

pertenecen a serotipos: 1/2a, 1/2b y 4b (Doyle, 2001b; Michanie, 2004; Monge y Arias-Echandi, 1999).

Desde 1981, las cepas del serotipo 4b han sido responsables del 33 al 50% de los casos esporádicos de listeriosis humana en todo el mundo y de los principales brotes producidos por alimentos. En contraposición, los aislamientos recuperados de alimentos en numerosos países pertenecen en su mayor parte al serotipo 1/2 (Ramos, 1991).

Se ha identificado el antígeno somático O y el antígeno flagelar H, para *L. monocytogenes*, y se ha subdividido en varias serovariedades (Hitchins, 2002).

Dentro de los serotipos de *Listeria monocytogenes*, tenemos: 1/2a, 1/2b, 1/2c, 3a, 3b, 3c, 4a, 4b, 4c, 4d y 4e (Hitchins, 2002).

III. OBJETIVOS

Objetivo General:

- Determinar la calidad microbiana y la presencia de *Listeria monocytogenes* en ensaladas frescas que se expenden en pollerías del distrito de Los Olivos.

Objetivos Específicos:

- Evaluar las condiciones Higiénico-Sanitarias de las pollerías en las cuales se expenden ensaladas frescas.
- Determinar el número de microorganismos aerobios mesófilos presentes en las ensaladas.
- Determinar el Número de Coliformes.
- Determinar el Número de *E. coli*.
- Determinar la presencia de *Salmonella* sp.
- Determinar el número de *Staphylococcus aureus*.
- Aislar e identificar *Listeria monocytogenes*.
- Evaluar si la inspección Higiénico-Sanitaria y el análisis microbiológico influyen significativamente en el resultado de la calidad microbiana de las pollerías analizadas.
- Determinar que rubros de la inspección Higiénico-Sanitaria influyen significativamente en el resultado de la Inspección.
- Determinar que indicadores microbiológicos influyen significativamente en el resultado del análisis microbiológico.
- Establecer si los rubros de la Inspección Higiénico-Sanitaria y el análisis microbiológico influyen en el recuento de *Staphylococcus aureus*, y en la presencia de *Salmonella* sp. y *Listeria monocytogenes*.

- Evaluar si existe relación entre la presencia de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp. y *Staphylococcus aureus*.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

1. Material Biológico

1.1. Cepas de referencia: *E. coli* ATCC 3128, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 y *Listeria monocytogenes* ATCC 35152.

Las cepas fueron proporcionadas por el Laboratorio Control de Calidad de Alimentos, Aguas y Ambientes. FCB - UNMSM.

1.2. Muestras

Se colectó 83 muestras de ensaladas procedentes de pollerías del distrito de Los Olivos.

2. Métodos

2.1. Cálculo de las muestras

Se determinó el tamaño de la muestra (n) en base al trabajo más reciente, realizado por Gurler *et al.*, (2015), donde obtuvo un porcentaje de 5,7% de muestras positivas para *L. monocytogenes*. Entonces empleando la fórmula descrita por Díaz, (2011) se obtiene que el tamaño de la muestra a analizar es de 83 pollerías.

El cálculo se realizó de la siguiente manera:

$$\boxed{n = \frac{(Z)^2(p)(q)}{(d)^2}} \Rightarrow n = \frac{(1,96)^2(0,057)(0,943)}{(0,05)^2}$$
$$n = 82,59 \sim n = 83$$

Fuente: Díaz, 2011.

Donde:

n= Tamaño de la población.

Z= Nivel de confianza = 1,96

p= Probabilidad de éxito o proporción esperada = 0,057

q= Probabilidad de fracaso = 0,943

d= Precisión = 0,05

2.2. Toma de muestras

Se colectó asépticamente una porción de ensalada de aproximadamente 200g cada una para el ensayo microbiológico y se transportó en *coolers* refrigerados a una temperatura de 4°C. Las muestras colectadas fueron rotuladas de modo tal que se tenga información respecto a su procedencia y se garantice su identificación al momento de realizar el ensayo. Las muestras fueron analizadas en un máximo de 24 horas.

2.3. Procesamiento de las muestras

Se aplicó la metodología establecida por la ICMSF. 2000 para el recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos (Anexo 02), FDA/BAM. Chapter 4. 2013 NMP de bacterias Coliformes y *Escherichia coli* (Feng *et al.*, 2013; Anexo 03), FDA/BAM. Chapter 5. 2016 Detección de *Salmonella* sp. (Andrews *et al.*, 2016; Anexo 04), FDA/BAM. Chapter 12. 2016 recuento de *Staphylococcus aureus* (Bennett *et al.*, 2016; Anexo 07) y FDA/BAM. Chapter 10. 2016 Detección de *Listeria monocytogenes* (Hitchins *et al.*, 2016; Anexo 06).

Se empleó una ficha de resultados para el registro de los mismos de cada sitio de expendio (Anexo 11).

2.4. Confirmación de bacterias patógenas

2.4.1. Confirmación de cepas de *Salmonella* sp.

▪ Identificación de colonias de *Salmonella* sp.

Se examinó macroscópicamente las colonias que crecieron en los medios selectivos, observando las siguientes características:

En el Agar Sulfito Bismuto las colonias son marrones, grises o negras; a veces presentan brillo metálico.

En el Agar Hektoen las colonias son verde azuladas con o sin centro negro.

En el Agar Xilosa Lisina Desoxicolato las colonias son de color rojo con centro negro debido a la producción de sulfuro de hidrogeno.

Se seleccionaron las colonias características, sembrándose en Agar Tripticasa de Soya (TSA), incubándose a 35-37°C por 24 horas.

▪ **Caracterización de las colonias aisladas**

La caracterización fenotípica incluyo las siguientes pruebas:

- Morfología microscópica: Mediante la técnica de coloración Gram, se procedió a observar bacilos Gram negativos.
- Prueba de catalasa: La reacción positiva con la adición de peróxido de hidrogeno.
- Prueba de Oxidasa: Una muestra bacteriana proveniente de un cultivo de 24 horas sobre la tira de oxidasa da una reacción negativa.
- Pruebas bioquímicas:

TSI: K/A \pm H₂S \pm G

LIA: K/K \pm H₂S \pm G

▪ **Determinación serológica**

Se empleó la técnica de aglutinación en lámina, que consistió en hacer una suspensión de la colonia de 24h de incubación en una gota de solución salina al 0,85% en una lámina portaobjeto.

Posteriormente se le añadió media gota de Suero Polivalente Anti-Salmonella PROBAC DO y se homogenizo con el asa de siembra moviendo la lámina en vaivén hasta lograr una mezcla uniforme por 1 a 2 minutos (Edwards, P y Ewing's, W., 1972; Murray *et al.*, 2003; Koneman, E. *et al.*, 2006; Anexo 05).

2.4.2. Confirmación de cepas de *Listeria monocytogenes*

- **Identificación de colonias de *Listeria monocytogenes***

Se examinó macroscópicamente las colonias que crecieron en los medios selectivos, observando las siguientes características:

En el Agar Palcam las colonias son verdosas de 1 a 2mm de diámetro de borde entero con halo negro, debido a la degradación de la esculina.

Se seleccionaron las colonias características, sembrándose en Agar Tripticasa de Soya con 0,6% de Extracto de Levadura (TSAye), incubándose a 30°C por 24-48 horas.

- **Pruebas bioquímicas de las colonias aisladas**

La caracterización fenotípica incluyo las siguientes pruebas:

- Morfología microscópica: Mediante la técnica de coloración Gram, se procedió a observar bacilos cortos Gram positivos.
- Prueba de catalasa: La reacción positiva con la adición de peróxido de hidrogeno.
- Prueba de oxidasa: Una muestra bacteriana proveniente de un cultivo de 24 horas sobre la tira de oxidasa da una reacción negativa.
- Prueba de motilidad: Se inoculo por puntura en medio SIM, incubándose a 20-25°C y a 37°C por 7 días. A una temperatura de 20-25°C es móvil tipo “tumbling” o “volteo” característico de *L. monocytogenes*. Mientras que a 37°C no presenta dicha característica.

- **Confirmación molecular por PCR a tiempo real**

- **Extracción de DNA empleando *mericon* DNA Bacteria plus Kit**

Para la extracción del DNA se empleó *mericon* DNA Bacteria Plus Kit siguiendo la metodología dada por el fabricante del kit comercial QIAGEN® (Schatz, 2015). Previamente se preparó el cultivo de enriquecimiento, para

lo cual se tomó 5 colonias típicas de *Listeria monocytogenes* en Agar TSAye al 0.6% por muestra y se sembró en caldo BLEB a 30°C por 24 horas.

Se pipeteo 1mL del cultivo de enriquecimiento en una microcentrifuga de 2mL y se centrifugo a 13000 rpm durante 5 minutos (± 10 s). Se desechó el sobrenadante con la ayuda de una pipeta, teniendo cuidado de no interrumpir el granulo. Luego se añadió 400 μ L del tampón de lisis al sedimento bacteriano, se tapó firmemente el tubo y se resuspendió el granulo usando el vortex. Después se transfirió toda la mezcla a un tubo de lisis de patógenos y se colocó en el vortex a una velocidad máxima durante 10 minutos. Se vuelve a centrifugar el tubo a 13000 rpm durante 5 minutos (± 10 s). Por último se vertió 100 μ L del sobrenadante a un tubo nuevo de microcentrifuga de 1.5mL.

- **Protocolo de PCR a tiempo real de acuerdo a QUIAGEN®** (Schatz, 2015)

Los reactivos a emplear se encuentran dentro de microtubos liofilizados (Ver Tabla N° 3), por lo que solo se necesitó saber el número de reacciones a realizar. Se agitó en el vortex los tubos que contienen las muestras y los controles. Después se centrifugo todos los tubos a una velocidad máxima de 10s para evitar la formación de goticulas que podrían producir contaminación cruzada. Se añadió 10 μ L del DNA extraído, 10 μ L del Ensayo mericon, 10 μ L del control positivo y 10 μ L de agua libre de RNasa (Control negativo) en los pocillos asignados. En seguida se selló las series de tubos con las tiras de tapas transparentes y se centrifugo a 1500 rpm por 2 minutos. Luego se colocaron los tubos en el termociclador, se selló el Rotor-Disc después de la configuración automatizada del PCR. Por

último se transfirió el archivo del ciclador de QIAasympphony AS al Rotor-Gene Q. Se programó el termociclador de acuerdo con la Tabla N° 4, para esto previamente se realizó la optimización antes de ejecutar la corrida del PCR.

Tabla N° 3. Preparación de la mezcla muestra para PCR (Schatz, 2015)

Componente	Muestra
Ensayo mericon ^a	1x96 reacciones
Muestra de DNA	10µL
DNA de control positivo	20 reacciones
QuantiTec® Buffer de Dilución de Ácido Nucleico	1.5mL
Agua libre de RNasa	1.9mL
PCR Master Mix Multiplex ^b	1040µL

^a Contiene cebadores y sondas específicas para el objetivo, así como el control interno (CI), ^b Contiene HotStar Taq® *plus* DNA Polimerasa, Tampón multiplex PCR en tiempo real, dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP).

Tabla N° 4. Protocolo de ciclo para el Rotor-Gene Q (Schatz, 2015)

Paso	Tiempo	Temperatura (°C)	Descripción
PCR inicial Paso de activación	5min	95	La activación de HotStarTaq <i>plus</i> DNA polimerasa
Ciclo de 3 etapas			
Desnaturalización	15s	95	Recolección de datos a 60°C
Hibridación	15s	60	
Extensión	10s	72	
N° de ciclos	40		

Detección	Detector	Excitación/E misión	Canal
Objetivo	FAM™	495 / 520 nm	Ciclo A verde
Control interno	MAX™	524 / 557 nm	Ciclo A amarillo

2.5. Inspección Higiénico Sanitaria

Se utilizó como referencia la ficha de vigilancia sanitaria del Ministerio de Salud que establece el funcionamiento de restaurantes y servicios afines (MINSA, 2005) para la elaboración de la ficha de inspección Higiénico-Sanitaria de Pollerías (Anexo 10). El distrito de Los Olivos está dividido en 28 zonas (Figura N° 1), y se seleccionó al azar a 83 pollerías (Tabla N° 5).

Posteriormente se utilizó los datos obtenidos de la ficha de inspección para relacionarlo con la calidad microbiana de las pollerías y la presencia de *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp. y recuento de *Staphylococcus aureus* mediante análisis de regresión y pruebas no paramétricas.



Figura N° 1. Mapa de zonificación del distrito de Los Olivos




LEYENDA		
Resultado de la Inspección Higiénico-Sanitaria a las Pollerías de Los Olivos		
Símbolo	Significado	N° Pollerías
	Aceptable	3
	En Proceso	63
	No Aceptable	17
Total		83

Tabla N° 5. Pollerías inspeccionadas y muestreadas del distrito de Los Olivos

Zona N°	Pollerías
Zona 2	Mister`s Chicken
Zona 3	Chicken Brasa, El Volador Cajamarquino, Al Gusto, El Mesón, Sandy, Dorados, Entreleñas, Parador, El Pollo Loco, Rolandos, El Fundo, El Señorial, Hikari y Norkys.
Zona 5	Anita y Entreleñas
Zona 6	Cantoy`s
Zona 7	Toño, Rolando`s Chicken, Bravura, Gran Chicken, San Andrés, El Cazador M y S y El Volador Cajamarquino
Zona 8	Pollos Tio`s y Don K`RBON
Zona 10	Estrella, El Fogon de Yaky`s, Mc Ronal Chicken y Norkas
Zona 12	La Cabaña, Delirios, Salazar y Garay.
Zona 13	Amistad
Zona 14	El Pechugon, Andrea y Los Cajamarquinos
Zona 15	El Volador
Zona 16	Rico, Los Pollitos, Rolando`s, El Volador, La Pollito, El Pollo Loco, El Chotano, Amarily`s, Pollos Rossy, El Punto del Sabor, Chicken Palacey Don Juan.
Zona 17	Iris Chicken, Estrella y El Granjerito,
Zona 18	Donald`s Chicken y Campo Verde
Zona 19	El Mesón, Chicken Brasa y La Cesta
Zona 20	Donald`s Chicken y El Gallito Chicken Grill
Zona 21	Fiory`s Chickens
Zona 22	Hikari, De Gran Sabor, Royal House Chicken, Excelencia y El Campollo

Zona 25	Mario's, Yahaira, Peppe's, Don José, Dorados y Diego's
Zona 26	Mana II, El Mana, El punto del Sabor, Estrella y El León
Zona 28	Doraditos, Vegas, Willys y Piko Rey

Fuente: Propia.

2.6. Análisis estadístico

Los resultados se procesaron usando el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 24 (Nie, 2016). Se aplicó la regresión múltiple para evaluar si la Inspección Higiénico-Sanitaria y el análisis microbiológico influyen significativamente en el resultado de la calidad microbiana de las pollerías evaluadas. Además se empleó el coeficiente de correlación de Pearson para establecer la relación entre las variables cuantitativas Inspección Higiénico-Sanitaria y análisis microbiológico con el resultado de la calidad microbiana.

La regresión múltiple también se usó para determinar que rubros de la inspección Higiénico-Sanitaria influyen significativamente en el resultado de la Inspección; para evaluar que indicadores microbiológicos influyen significativamente en el resultado del análisis microbiológico de las ensaladas y para determinar si los rubros de la Inspección Higiénico-Sanitaria y el análisis microbiológico influyen en el recuento de *Staphylococcus aureus*. A si mismo se aplicó el coeficiente de correlación de Pearson para establecer la relación entre las variables mencionadas anteriormente; a excepción de las variables análisis microbiológico con detección de *Salmonella* sp. y *Listeria monocytogenes*, en ambos casos se empleó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney.

Se elaboró gráficos de regresión parcial de los residuos de cada variable independiente y los residuos de la variable dependiente, en cada caso, para

observar las posibles desviaciones de los datos desde el modelo lineal que se está ajustando.

La regresión logística binaria se utilizó para establecer si los rubros de la inspección Higiénico-Sanitaria y el análisis microbiológico influyen en la presencia de *Salmonella* sp. y *Listeria monocytogenes*.

La prueba de Chi-cuadrado se usó para evidenciar si existe relación entre la presencia de *Listeria monocytogenes* con *Salmonella* sp. en las ensaladas.

La prueba no paramétrica U de Mann-Whitney se empleó para determinar si existe relación entre el recuento de *Staphylococcus aureus* con la presencia de *Salmonella* sp. y *Listeria monocytogenes*.

V. RESULTADOS

Se realizó la inspección Higiénico-Sanitaria a todas las pollerías del distrito de Los Olivos, durante los meses de Setiembre a Noviembre del 2015 obteniendo que el 18,18% (24) resultó “Aceptable”, el 66,67% (88) “En Proceso” y el 15,15% (20) “No Aceptable” (Figura N° 2).

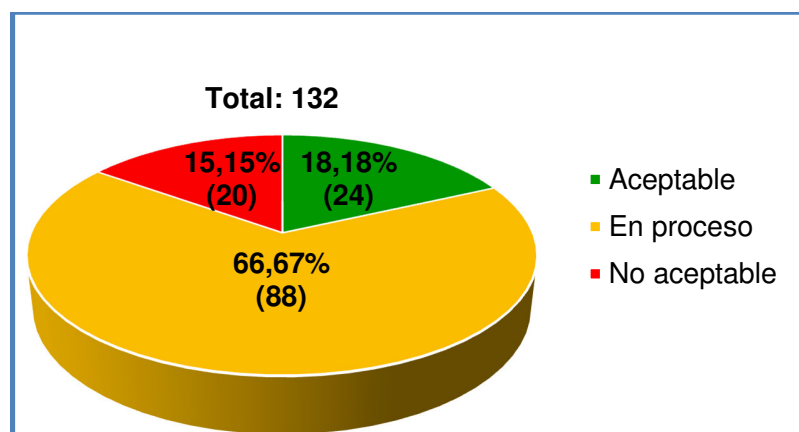


Figura N° 2. Resultado de la inspección Higiénico-Sanitaria a pollerías de Los Olivos

A partir de estos resultados se seleccionó al azar a 83 pollerías de las cuales el 3,61% (03) resultó ser “Aceptable”, el 75,90% (63) “En Proceso” y el 20,48% (17) “No Aceptable” (Figura N° 3).

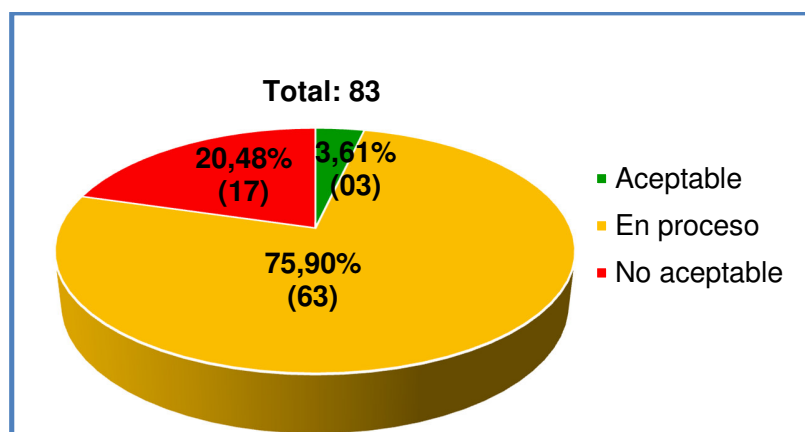


Figura N° 3. Resultado de la inspección Higiénico-Sanitaria a Pollerías seleccionadas

Posteriormente se hizo el análisis microbiológico obteniendo que el 97,59% (81) resultó “No Conforme” mientras que el 2,41% (02) “Conforme” según la Norma Técnica Sanitaria (NTS) 071 establecida por el MINSA/DIGESA, (2003). (Figura N° 4).

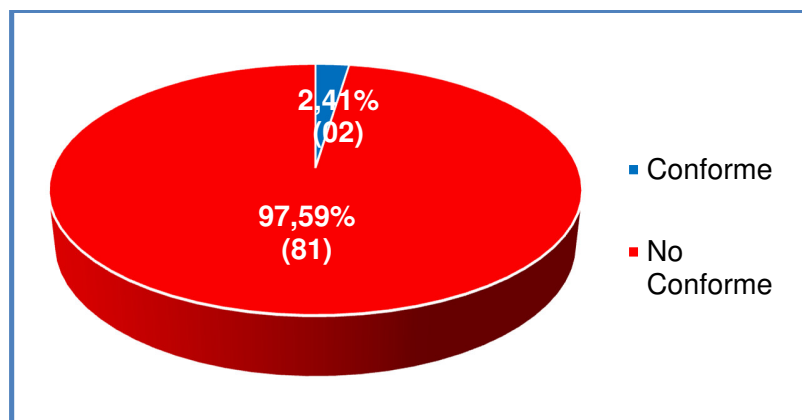


Figura N° 4. Resultado del Análisis Microbiológico a Pollerías seleccionadas

En base a los resultados obtenidos en la inspección Higiénico-Sanitaria y el análisis microbiológico, se determinó que el 96,39% (80) de las pollerías resultaron “no aptas” mientras que el 3,61% (03) “aptas” (Figura N° 5). Es importante indicar que a las variables Análisis Microbiológico e Inspección Higiénico-Sanitaria se le asignó una relación de [3:1], ya que, el análisis microbiológico es una variable determinante en la categorización de aptitud del producto que la inspección, es decir, un buen resultado en inspección no necesariamente garantiza que el producto sea de calidad.

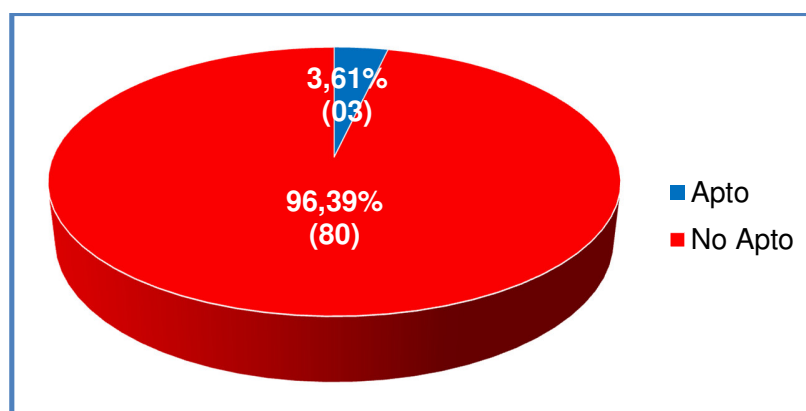


Figura N° 5. Resultado de la Calidad Microbiana de las pollerías seleccionadas

En la Figura N° 6 se observa que el 84,34% (70) de las pollerías superan el límite permisible para el recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos, que es de 10^5 UFC/g (Tabla N° 1).

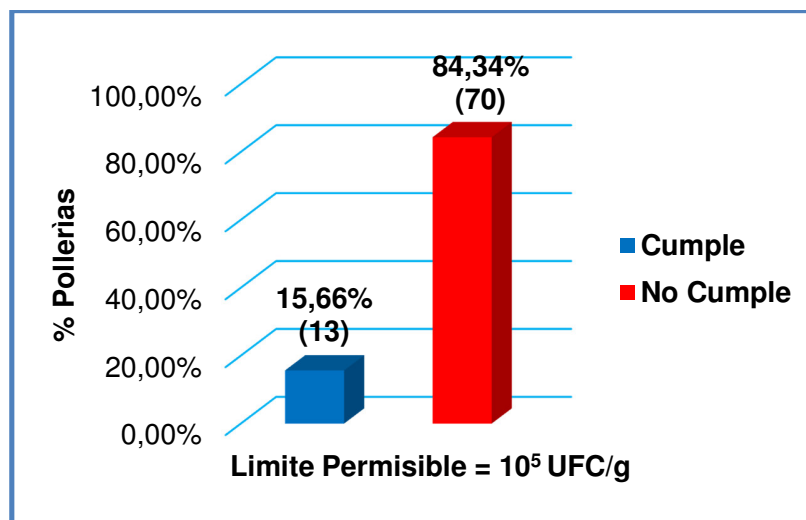


Figura N° 6. Recuento de Aerobios Mesófilos

En la Figura N° 7 se observa que el 95,18% (79) de las pollerías analizadas superó el límite permisible del NMP de Coliformes Totales, que es de 10^2 NMP/g (Tabla N° 1).

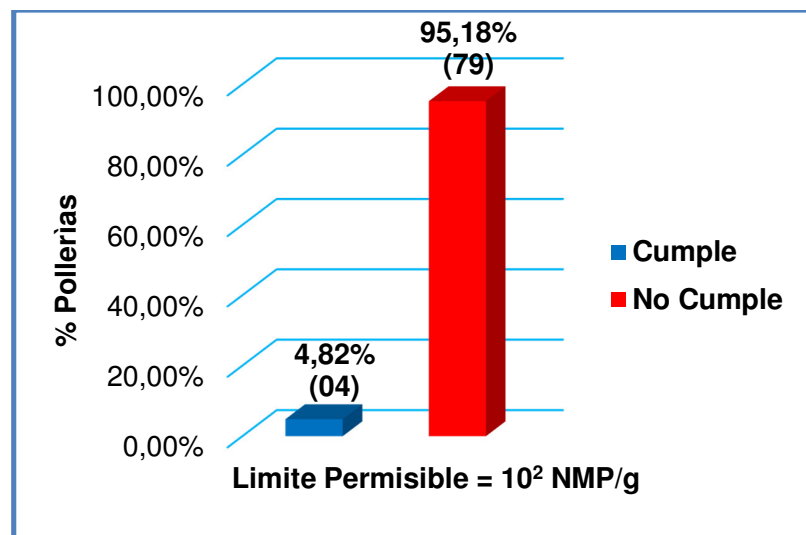


Figura N° 7. NMP Coliformes Totales

En la Figura N° 8 se observa que el 24,10% (20) de las pollerías analizadas superó el límite permisible del NMP de *Escherichia coli*, que es de 10 NMP/g (Tabla N° 1).

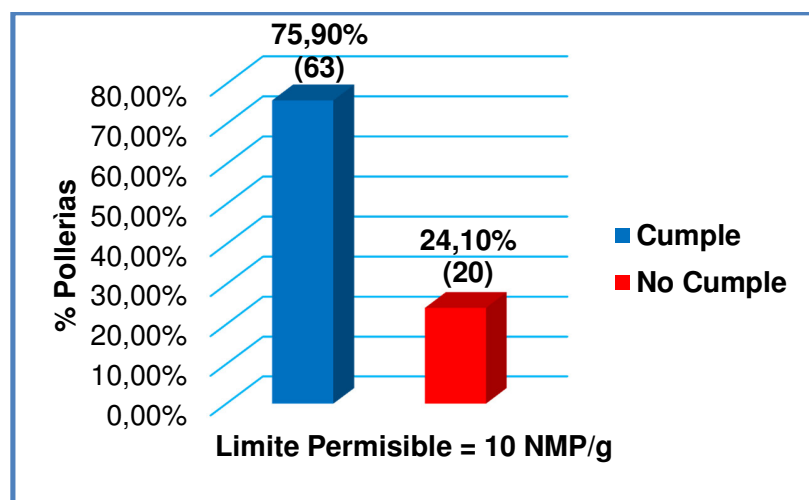


Figura N° 8. NMP *Escherichia coli*

En la Figura N° 9 se observa que el 14,46% (12) de las pollerías analizadas superó el límite permisible para *Salmonella* sp., que es ausencia/25g (Tabla N° 1). En la Tabla N° 31, se aprecia las características bioquímicas y confirmación serológica de las cepas de *Salmonella* sp. aisladas de las ensaladas, donde se tiene que *Salmonella* sp. es Gram (-), Catalasa (+), Oxidasa (-), produce una reacción alcalina/alcalina en el medio LIA, produce una reacción alcalina/acido en ocasiones con producción de sulfuro de hidrogeno y gas en el medio TSI y presenta reacción de aglutinación completa en presencia del suero polivalente Anti-Salmonella.

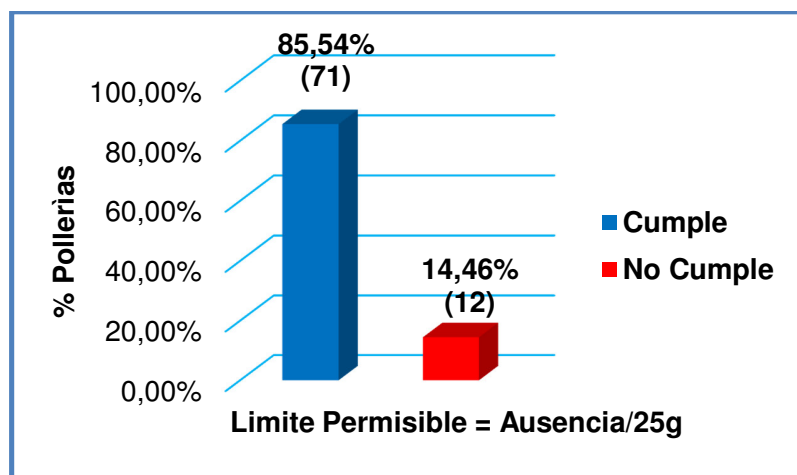


Figura N° 9. Detección de *Salmonella* sp.

En la Figura N° 10 se observa que el 21,69% (18) de las pollerías analizadas superó el limite permisible para el recuento de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo, que es 10 UFC/g (Tabla N° 1).

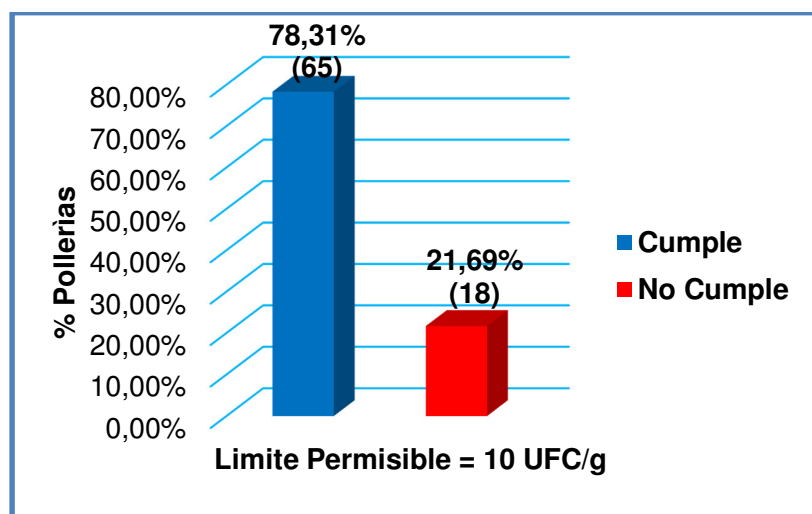


Figura N° 10. Recuento de *Staphylococcus aureus*

En la Figura N° 11 se observa que el 7,23% (06) de las pollerías analizadas superó el limite permisible para *Listeria* spp., que es ausencia/25g (Tabla N° 1) y el 3,61% (03) corresponde a *Listeria monocytogenes* (Figura N° 13). En la Tabla N° 32, se aprecia las características bioquímicas de las cepas de *Listeria* spp. y *L. monocytogenes* aisladas de las ensaladas,

en donde se tiene que *Listeria* spp. y *L. monocytogenes* son Gram (+), Catalasa (+), Oxidasa (-) y presentan motilidad en forma de paraguas en medio SIM a 25°C mas no a 37°C. En la Tabla N° 33, se muestran los resultados del PCR a tiempo real para confirmación de *Listeria monocytogenes*. En las Figuras N° 12 y 14 se observan los gráficos de amplificación de PCR a tiempo real de las muestras positivas a *Listeria* spp. y *Listeria monocytogenes*, respectivamente.

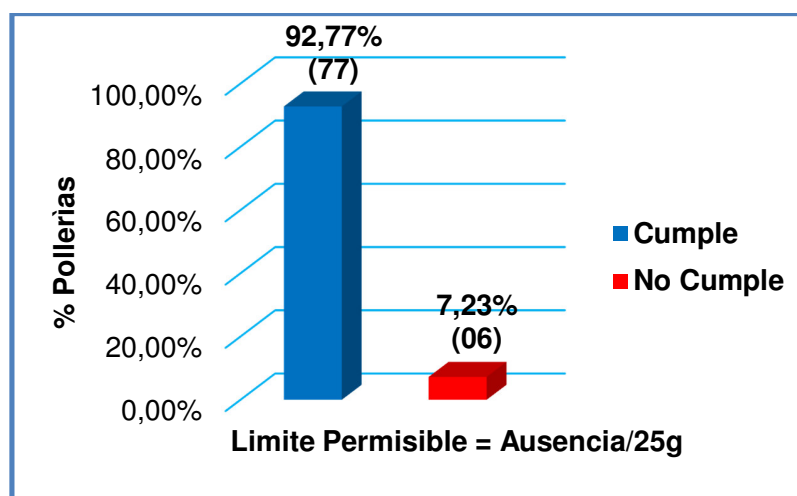


Figura N° 11. Detección de *Listeria* spp.

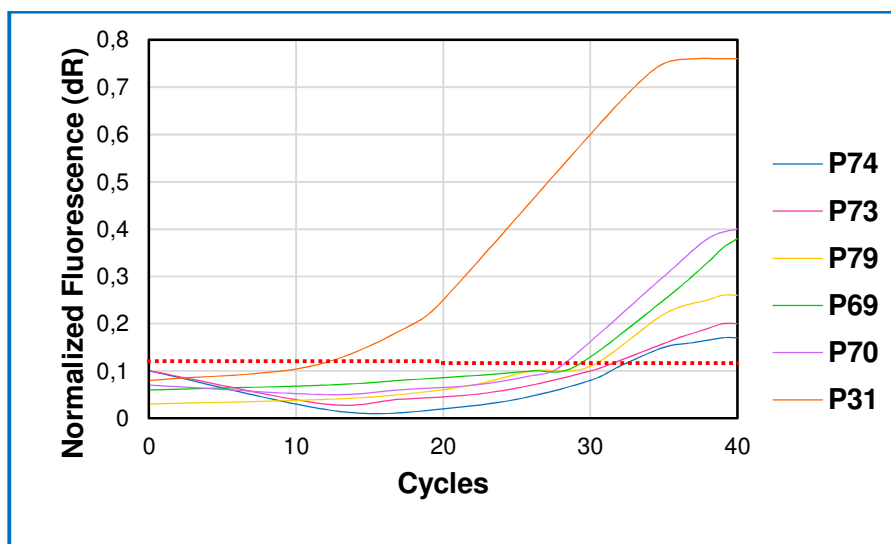


Figura N° 12. Muestras positivas para *Listeria* spp. por PCR-Tiempo Real con Rotor-Gene Q

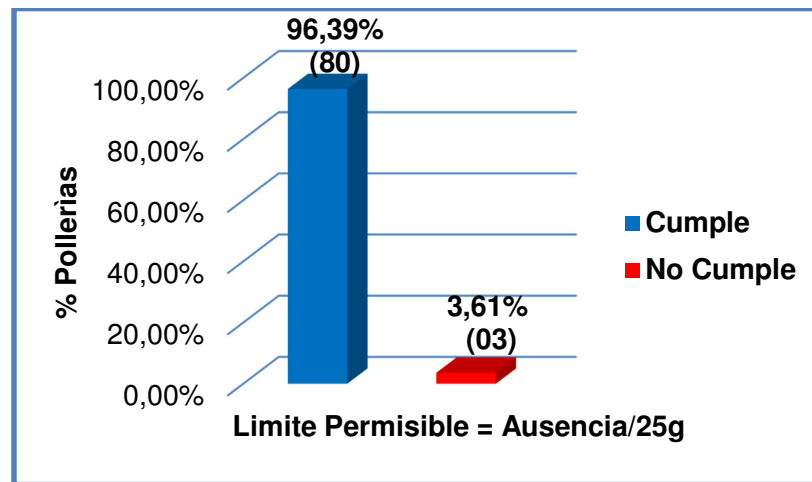


Figura N° 13. Detección de *Listeria monocytogenes*

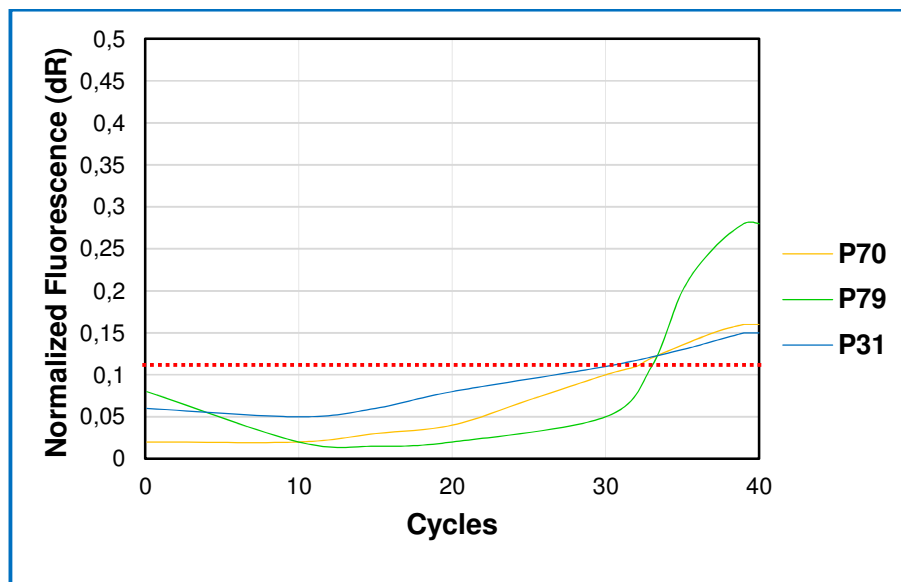


Figura N° 14. Muestras positivas para *Listeria monocytogenes* por PCR-Tiempo Real con Rotor-Gene Q

Los resultados del análisis de regresión múltiple para evaluar si la inspección Higiénico-Sanitaria y el análisis microbiológico influyen en la calidad microbiana de las pollerías; se obtuvo que el coeficiente de determinación hallado es $R^2 = 1.000$ con un error estándar de estimación nulo, lo cual significa que la calidad microbiana queda explicada en un 100% por las variables independientes y que existe una buena relación con las variables inspección y análisis microbiológico (Tabla N° 6). Además se calculó el valor de los coeficientes β_0 , β_1 y β_2 con un error típico de estimación nulo y el p-valor, a un nivel de significación del 5%, fue menor esto demuestra que la inspección y el análisis microbiológico influyen significativamente en la calidad microbiana de las pollerías (Tabla N° 7). En la Figura N° 15 se observa la distribución de los resultados obtenidos tanto en la calidad microbiana como en la inspección, es así que se establece la ecuación de regresión entre ambas variables; donde el coeficiente obtenido nos dice que por cada aumento en el puntaje de la inspección se espera un cambio de 0.250 puntos en la calidad microbiana. En cambio, en la Figura N° 16 se observa que por cada aumento en el puntaje del análisis microbiológico se espera un cambio de 0.750 puntos en la calidad microbiana.

Tabla N° 6. Regresión múltiple entre la Calidad Microbiana y las variables Inspección Higiénico-Sanitaria y Análisis Microbiológico

Regresión	R	R^2	Error estándar de la estimación
Múltiple	1.000	1.000	0

Tabla N° 7. Coeficientes de la regresión múltiple entre la Calidad Microbiana y las variables Inspección Higiénico-Sanitaria y Análisis Microbiológico

Regresión múltiple	Coeficientes no estandarizados		Sig.
	β	Error estándar	
(Constante)	-1.066E-14	0.000	0
Inspección Higiénico-Sanitaria (X_1)	0.250	0.000	0
Análisis Microbiológico (X_2)	0.750	0.000	0

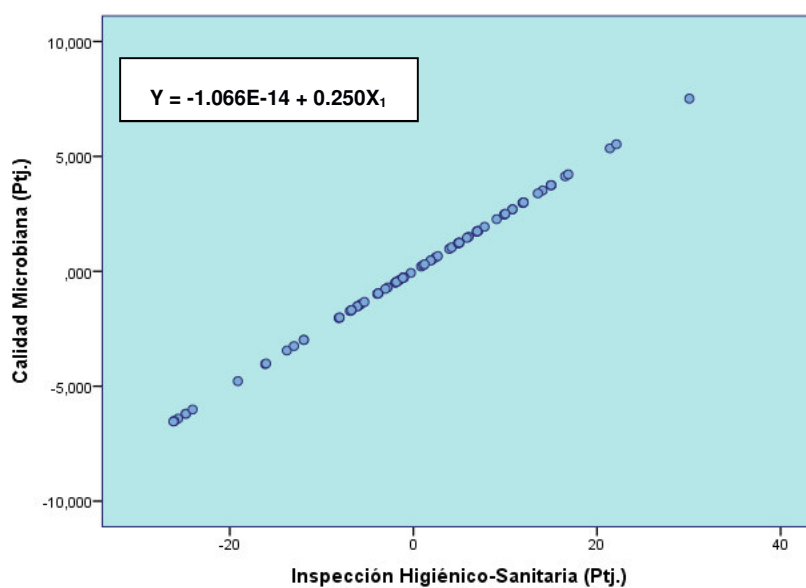


Figura N° 15. Curva de Regresión entre la Calidad Microbiana vs. Inspección Higiénico-Sanitaria

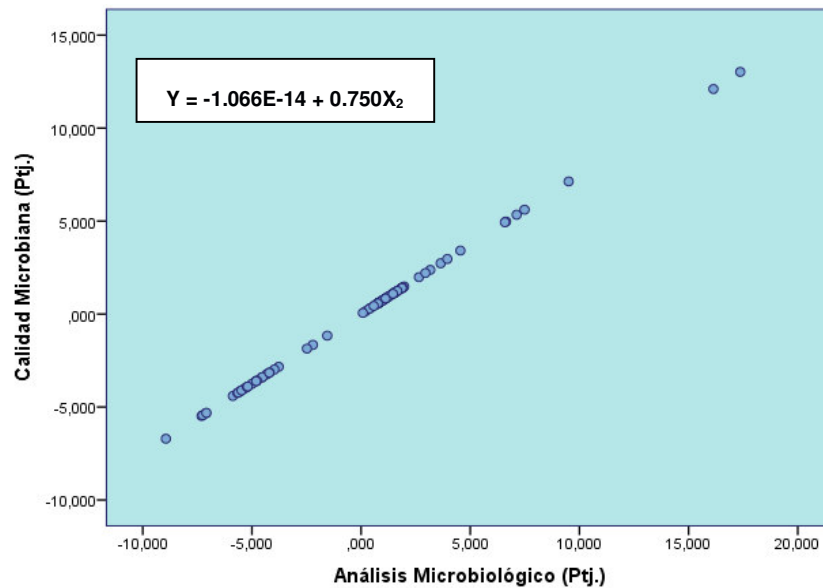


Figura N° 16. Curva de Regresión entre la Calidad Microbiana vs. Análisis Microbiológico

En la Tabla N° 8 se muestra los coeficientes de correlación de Pearson entre la calidad microbiana y las variables inspección Higiénico-Sanitaria y análisis microbiológico; resultando ser 0.629 y 0.744, respectivamente. Esto demuestra que si bien es cierto en ambos casos hay una relación positiva entre ambas variables, es más fuerte la relación que existe entre la calidad microbiana y el análisis microbiológico.

Tabla N° 8. Coeficientes de Correlación de Pearson entre la Calidad Microbiana y las variables Inspección Higiénico-Sanitaria y Análisis Microbiológico

		Inspección Higiénico-Sanitaria	Análisis Microbiológico
Resultado de la Calidad Microbiana	Correlación de Pearson	0.629**	0.744**
	Sig. (bilateral)	0.000	0.000
	N	83	83

** . La correlación es significativa al nivel 0,001 (bilateral).

En la Tabla N° 9 se observa que el coeficiente de determinación (R^2) fue 0.948 con un error estándar de la estimación de 2.837, esto indica que la inspección Higiénico-Sanitaria es explicada en un 94,8% por los rubros de la inspección y que existe una buena relación entre las variables. Además se obtuvo que los coeficientes β_0 , β_1 , β_2 , β_3 , β_4 , β_5 y β_6 resultaron ser 8.977, 0.188, 0.257, 0.037, 0.117, 0.114 y 0.140, respectivamente con un error típico de estimación menor y el p-valor fue significativo para todas las variables excepto para la constante y la variable Comedor demostrando que influyen significativamente en la inspección (Tabla N° 10). Cabe mencionar que el rubro Agua y Desagüe fue eliminado del análisis, ya que, es una variable constante o tiene correlaciones perdidas.

Tabla N° 9. Regresión múltiple entre la inspección Higiénico-Sanitaria y las variables Almacén, Cocina, Comedor, SS.HH., Preparación y Manipulador

Regresión	R	R^2	Error estándar de la estimación
Múltiple	0.974	0.948	2.837

Tabla N° 10. Coeficientes de la regresión múltiple entre la inspección Higiénico-Sanitaria y las variables Almacén, Cocina, Comedor, SS.HH., Preparación y Manipulador

Regresión Múltiple	Coeficientes no estandarizados		Sig.
	β	Error estándar	
(Constante)	8.977	3.181	0.006
Almacén (X_1)	0.188	0.011	0.000
Cocina (X_2)	0.257	0.029	0.000
Comedor (X_3)	0.037	0.029	0.206
SS.HH (X_4)	0.117	0.025	0.000

Preparación (X₅)	0.114	0.014	0.000
Manipulador (X₆)	0.140	0.021	0.000

En las Figuras N° 17, 18, 19, 20, 21 y 22 se puede observar la distribución de los resultados en la recta de regresión ajustada, donde los coeficientes obtenidos nos dicen que por cada aumento en el puntaje de los rubros almacén, cocina, comedor, SS.HH., preparación y manipulador se espera un cambio de 0.188, 0.257, 0.037, 0.117, 0.114 y 0.140, respectivamente en el puntaje de la inspección.

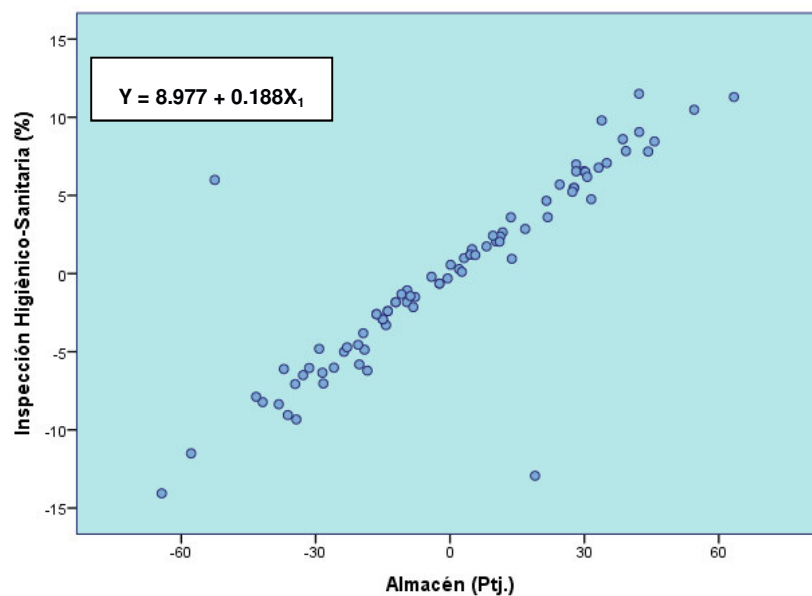


Figura N° 17. Curva de Regresión entre la inspección Higiénico-Sanitaria vs. Almacén

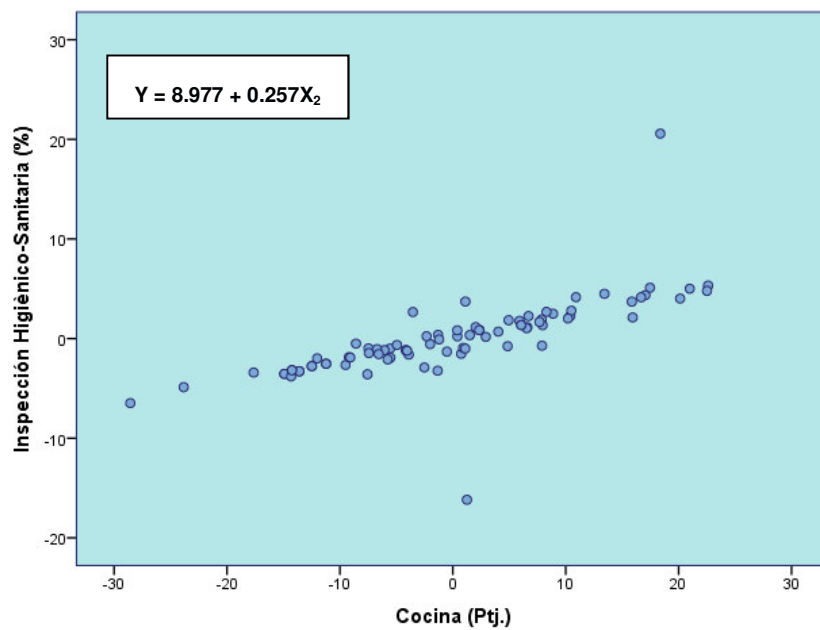


Figura N° 18. Curva de Regresión entre la inspección Higiénico-Sanitaria vs. Cocina

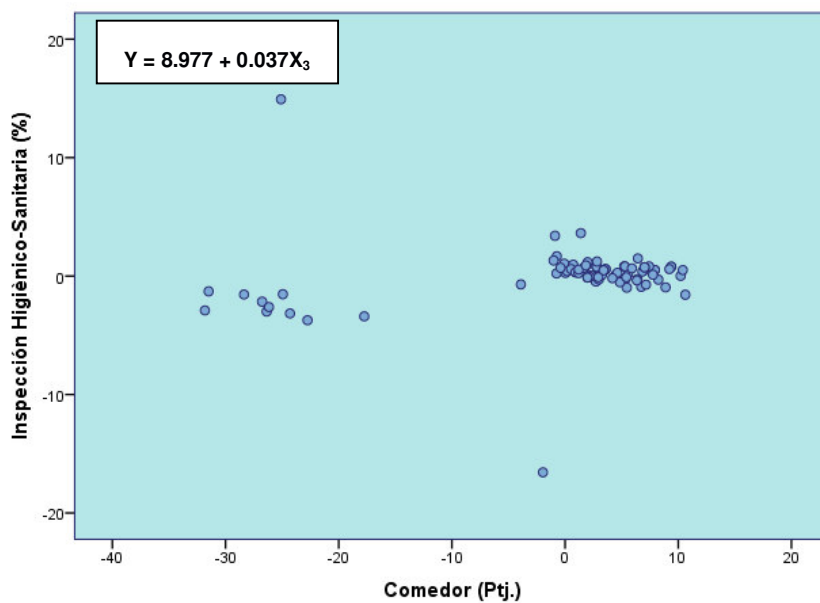


Figura N° 19. Curva de Regresión entre la inspección Higiénico-Sanitaria vs. Comedor

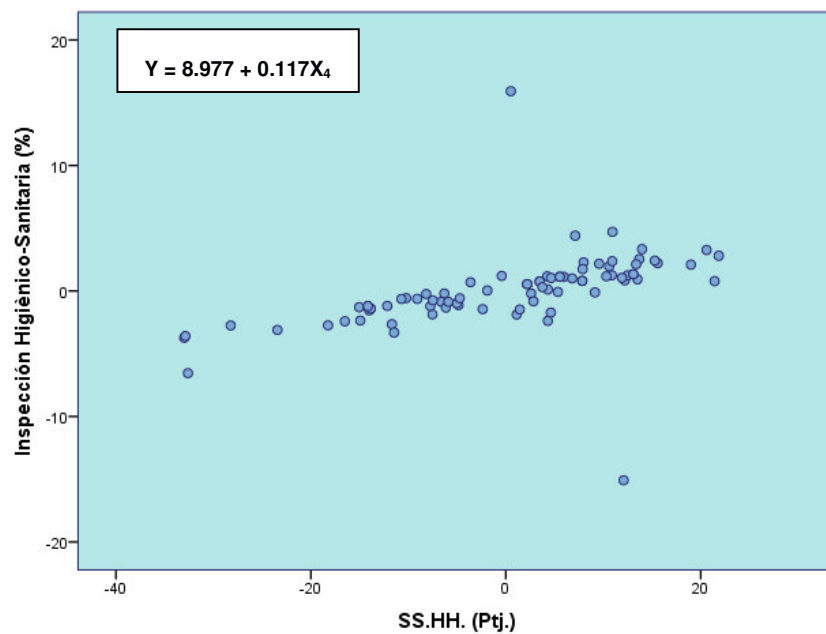


Figura N° 20. Curva de Regresión entre la inspección Higiénico-Sanitaria vs. SS.HH.

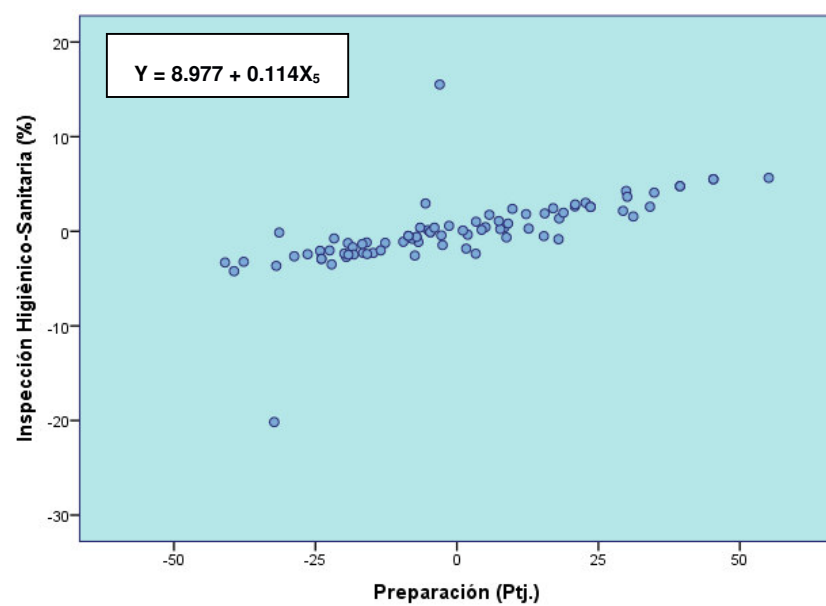


Figura N° 21. Curva de Regresión entre la inspección Higiénico-Sanitaria vs. Preparación

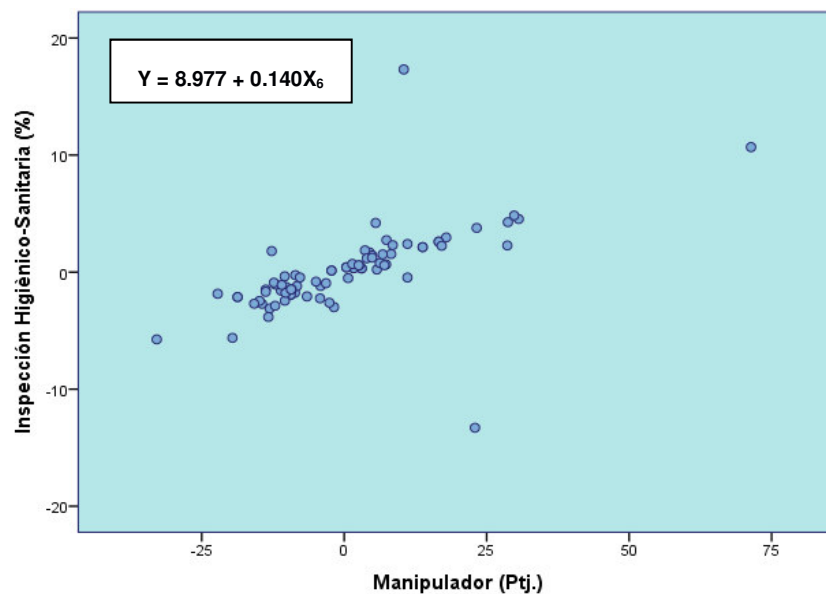


Figura N° 22. Curva de Regresión entre la inspección Higiénico-Sanitaria vs. Manipulador

En la Tabla N° 11 se muestra los coeficientes de correlación de Pearson entre la inspección Higiénico-Sanitaria y las variables Almacén, Cocina, Comedor, SS.HH., Preparación y Manipulador; resultando ser 0.812, 0.733, 0.195, 0.532, 0.683 y 0.406, respectivamente. Se puede notar que existe una correlación positiva entre el resultado de la inspección y los rubros de la inspección, sin embargo, es importante destacar que la correlación es más fuerte con todos los rubros excepto con la variable comedor.

Tabla N° 11. Coeficientes de Correlación de Pearson entre la inspección Higiénico-Sanitaria y las variables Almacén, Cocina, Comedor, SS.HH., Preparación y Manipulador

		Almacén	Cocina	Comedor
Inspección Higiénico-Sanitaria	Correlación de Pearson	0.812**	0.733**	0.195
	Sig. (bilateral)	0.000	0.000	0.077
	N	83	83	83
		SS.HH	Preparación	Manipulador

Inspección Higiénico- Sanitaria	Correlación de Pearson	0.532**	0.683**	0.406**
	Sig. (bilateral)	0.000	0.000	0.000
	N	83	83	83

** . La correlación es significativa al nivel 0,001 (bilateral).

En la Tabla N° 12 se observa que el coeficiente de determinación (R^2) fue 1.000 con un error estándar de la estimación menor, esto quiere decir que el análisis microbiológico es explicado en un 100% por las variables independientes y que existe una buena relación entre las variables. Además se obtuvo el valor de los coeficientes β_0 , β_1 , β_2 , β_3 y β_4 con un error estándar menor y el p-valor fue significativo para todas las variables excepto para la constante demostrando que influyen significativamente en el análisis microbiológico (Tabla N° 13).

Tabla N° 12. Regresión múltiple entre el Análisis Microbiológico y las variables Recuento de Aerobios Mesófilos, Recuento de *S. aureus*, NMP de Coliformes y *E. coli*.

Regresión	R	R²	Error estándar de la estimación
Múltiple	1.000	1.000	0.079

Tabla N° 13. Coeficientes de la regresión múltiple entre el Análisis microbiológico y las variables Recuento de Aerobios Mesófilos, Recuento de *S. aureus*, NMP de Coliformes y *E. coli*.

Regresión Múltiple	Coeficientes no estandarizados		Sig.
	β	Error estándar	
(Constante)	0.366	0.147	0.015
Recuento de Aerobios mesófilos (X_1)	0.167	0.001	0.000
Recuento de <i>S. aureus</i> (X_2)	0.166	0.003	0.000

NMP de Coliformes (X_3)	0.167	0.001	0.000
NMP de <i>E. coli</i> (X_4)	0.166	0.001	0.000

En las Figuras N° 23, 24, 25 y 26 se pueden visualizar la distribución de los resultados en la recta de regresión ajustada, donde los coeficientes obtenidos nos dicen que por cada incremento en el recuento de aerobios mesófilos, recuento de *S. aureus*, NMP de coliformes y NMP de *E. coli* se espera un cambio de 0.167, 0.166, 0.167 y 0.166 en el puntaje del análisis microbiológico.

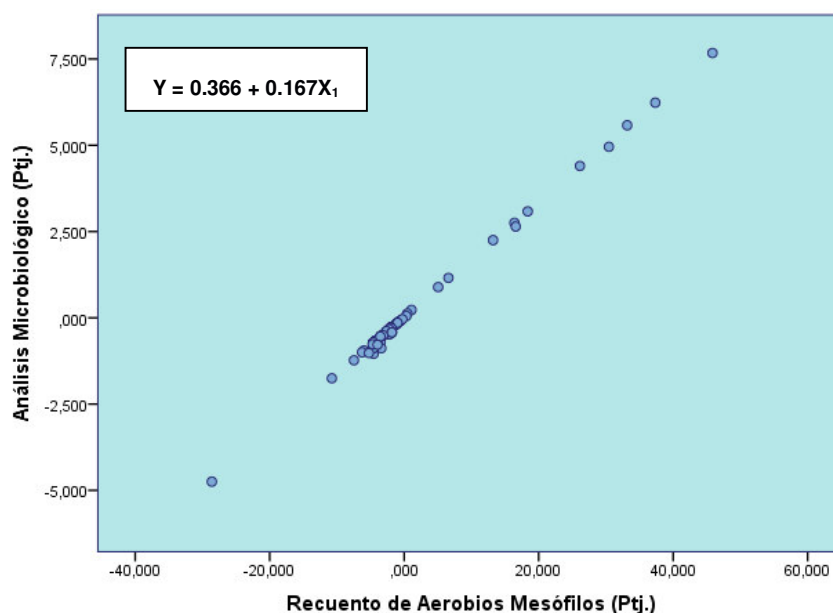


Figura N° 23. Curva de Regresión entre el Análisis Microbiológico vs. Recuento de Aerobios Mesófilos

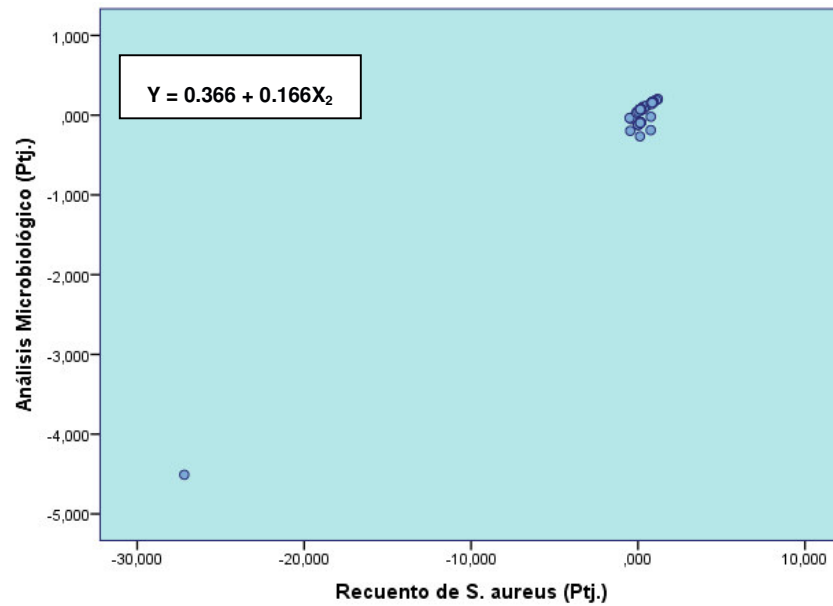


Figura N° 24. Curva de Regresión entre el Análisis Microbiológico vs. Recuento de *S. aureus*

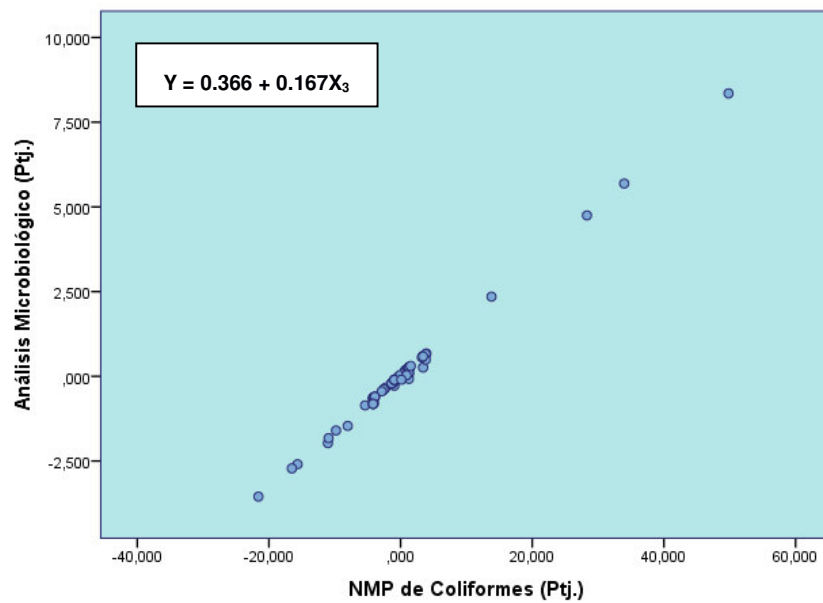


Figura N° 25. Curva de Regresión entre el Análisis Microbiológico vs. NMP de Coliformes

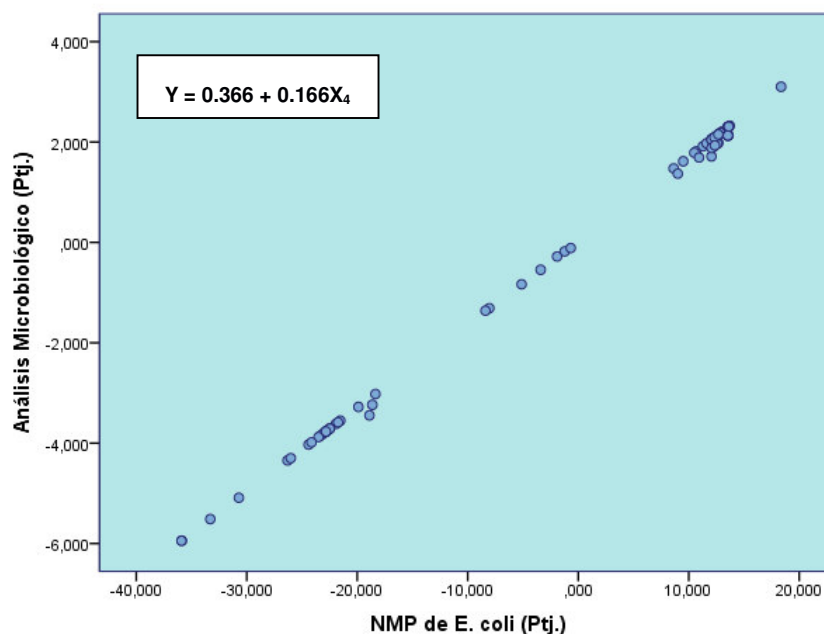


Figura N° 26. Curva de Regresión entre el Análisis Microbiológico vs. NMP de *E. coli*

En la Tabla N° 14 se muestra los coeficientes de correlación de Pearson entre el análisis microbiológico y las variables recuento de aerobios mesófilos, recuento de *S. aureus*, NMP de coliformes y NMP de *E. coli*; resultando ser 0.658, 0.220, 0.659 y 0.753, respectivamente. Esto confirma que hay una correlación positiva entre el análisis microbiológico y los indicadores microbianos, siendo mayor la fuerza de correlación con todas las variables excepto con el recuento de *S. aureus*.

Tabla N° 14. Coeficiente de Correlación de Pearson entre el Análisis Microbiológico y las variables Recuento de Aerobios mesófilos, Recuento de *S. aureus*, NMP de Coliformes y NMP de *E. coli*.

		Recuento de Aerobios Mesófilos	Recuento de <i>S. aureus</i>
Análisis Microbiológico	Correlación de Pearson	0.658**	0.220*

	Sig. (bilateral)	0.000	0.046
	N	83	83
		NMP de Coliformes	NMP de <i>E.coli</i>
Análisis Microbiológico	Correlación de Pearson	0.659**	0.753**
	Sig. (bilateral)	0.000	0.000
	N	83	83

** . La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

* . La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

Se empleó la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney para determinar si existe relación entre el análisis microbiológico y la detección de *Salmonella* sp. Previamente se verificó si la variable cuantitativa análisis microbiológico tiene una distribución normal, obteniendo una significación estadística de 0.001 en Ausencia de *Salmonella* sp. y 0 en Presencia de *Salmonella* sp. Según el contraste de Kolmogorov-Smirnov, y según Shapiro-Wilk 0.006 en Ausencia de *Salmonella* sp. y 0 en Presencia de *Salmonella* sp. (Tabla N° 15). En base a estos resultados se determina que el análisis microbiológico no tiene una distribución normal, ya que, el valor de significación es menor a 0.05 en ambos grupos o dicho de otra manera es significativo.

Tabla N° 15. Pruebas de normalidad entre el Análisis Microbiológico y Detección de *Salmonella* sp.

	Detección de <i>Salmonella</i> sp.	Kolmogorov-Smirnov	Shapiro-Wilk
		Sig.	Sig.
	Ausencia/25g	0.001	0.006
Análisis Microbiológico	Presencia/25g	0	0

En la Tabla N° 16 se muestra varios estadísticos de contraste, lo que se debe interpretar es el valor de significancia (Sig. Asintótica), que en nuestro caso fue 0.766 resultando ser

mayor que el nivel de significación al 0,05; entonces se concluye que no hay asociación entre el análisis microbiológico y la detección de *Salmonella* sp., porque, se acepta la hipótesis nula de que las medias del análisis microbiológico en Ausencia/25g y Presencia/25g de *Salmonella* sp. son iguales en ambos grupos al nivel de significación $\alpha=0.05$.

Tabla N° 16. Estadísticos de Contraste entre el Análisis Microbiológico y Detección de *Salmonella* sp.

	Análisis Microbiológico
U de Mann-Whitney	403.000
W de Wilcoxon	2959.000
Z	-0.298
Sig. asintót. (bilateral)	0.766

En la Tabla N° 17 se observa que el nivel de significación estadística en Ausencia y Presencia de *Listeria* spp.* fue 0.058 y 0 según el contraste de Kolmogorov-Smirnov, y según Shapiro-Wilk 0.246 en Ausencia/25g de *Listeria* spp.* y 0 en Presencia/25g de *Listeria* spp.* Con estos resultados se determina que el análisis microbiológico no tiene una distribución normal, debido a que, en ambos grupos el nivel de “p” es significativo (esto es, $p<0.05$).

Tabla N° 17. Pruebas de normalidad entre el Análisis Microbiológico y Detección de *Listeria* spp.*

	Detección de <i>Listeria</i> spp.*	Kolmogorov-Smirnov	Shapiro-Wilk
		Sig.	Sig.
Análisis Microbiológico	Ausencia/25g	0.058	0.246
	Presencia/25g	0	0

* Incluye *Listeria monocytogenes*

En la Tabla N° 18 se observa que el nivel de significancia fue de 0.439, el cual es mayor que el nivel de significancia establecido. Demostrando que no existe relación entre el resultado del análisis microbiológico y la detección de *Listeria* spp.*, pues las medias del análisis microbiológico en Presencia/25g y Ausencia/25g de *Listeria* sp.* son iguales al nivel de significación $\alpha=0.05$.

Tabla N° 18. Estadísticos de Contraste entre el Análisis Microbiológico y Detección de *Listeria* spp.*

	Análisis Microbiológico
U de Mann-Whitney	187.000
W de Wilcoxon	3190.000
Z	-0.774
Sig. asintótica (bilateral)	0.439

* Incluye *Listeria monocytogenes*

Se aplicó el análisis de regresión logística binaria para predecir el resultado de la variable categórica Detección de *Salmonella* sp. en función de las variables Almacén, Cocina, Comedor, SS.HH, Preparación, Manipulador y Análisis Microbiológico, y de esta manera demostrar si existe relación entre la variable dependiente y las variables independientes. Obteniéndose que los coeficientes para las variables β_0 , β_1 , β_2 , β_3 , β_4 , β_5 , β_6 y β_7 fueron 135.084, 0.022, -0.049, -1.358, 0.033, 0.022, 0.019 y 0.004 con un error estándar menor para todas las variables excepto para la constante y la variable comedor. También se observa que la significación estadística con la prueba Wald, que es un estadístico que sigue una ley Chi-cuadrado con un grado de libertad, resultado mayor a 0,05 para todas las variables y el valor de la OR (Exp (B)) para los rubros Almacén, SS.HH., Preparación, Manipulador y Análisis Microbiológico resultó ser una asociación positiva estadísticamente no significativa, es decir, que el incumplimiento de estos rubros se asocia con la mayor ocurrencia de

encontrar *Salmonella* sp. en las ensaladas. En cambio con los rubros Cocina y Comedor existe una asociación negativa estadísticamente no significativa, es decir, que el incumplimiento de estos rubros no se asocia con la mayor ocurrencia de encontrar *Salmonella* sp. (Tabla N° 19). Cabe mencionar que el rubro Agua y Desagüe fue eliminado del análisis, ya que, es una variable constante o tiene correlaciones pérdidas.

Tabla N° 19. Coeficientes de la ecuación de regresión logística entre la Detección de *Salmonella* sp. con las variables Almacén, Cocina, Comedor, SS.HH, Preparación, Manipulador y Análisis Microbiológico

Variables		B	E.T.	Wald	gl
Paso 1	Almacén (β_1)	0.022	0.014	2.611	1
	Cocina (β_2)	-0.049	0.033	2.237	1
	Comedor (β_3)	-1.358	436.642	0.000	1
	SS.HH (β_4)	0.033	0.028	1.453	1
	Preparación (β_5)	0.022	0.019	1.368	1
	Manipulador (β_6)	0.019	0.025	0.584	1
	Análisis Microbiológico (β_7)	0.004	0.081	0.002	1
	Constante (β_0)	135.084	43664.173	0.000	1

Variables		Sig.	Exp(B)	I.C. 95% para EXP(B)	
				Inferior	Superior
Paso 1	Almacén (β_1)	0.106	1.022	0.995	1.050
	Cocina (β_2)	0.135	0.952	0.893	1.015
	Comedor (β_3)	0.998	0.257	0.000	N.D.

	SS.HH (β_4)	0.228	1.034	0.979	1.092
	Preparación (β_5)	0.242	1.022	0.985	1.060
	Manipulador (β_6)	0.445	1.019	0.970	1.071
	Análisis Microbiológico (β_7)	0.963	1.004	0.857	1.175
	Constante (β_0)	0.998	4.635E+58	N.D.	N.D.

N.D.: No se determinó.

Se obtuvo que $-2 \log$ de la verosimilitud y el R^2 de Cox y Snell fue 55.144 y 0.150, respectivamente.; lo que se debe interpretar es el R^2 de Cox y Snell que nos indica que el 15,00% de la variación de la detección de *Salmonella* sp. es explicada por las siete variables introducidas en el modelo (Tabla N° 20).

Tabla N° 20. Resumen de la Regresión Logística entre la Detección de *Salmonella* sp. con las variables Almacén, Cocina, Comedor, SS.HH, Preparación, Manipulador y Análisis Microbiológico

Iteración	-2 log de la verosimilitud	R^2 de Cox y Snell
20	55.144 ^a	0.150

a. La estimación ha finalizado en el número de iteración 20 porque se han alcanzado las iteraciones máximas

En la Tabla N° 21 se muestra los coeficientes para las variables β_0 , β_1 , β_2 , β_3 , β_4 , β_5 , β_6 y β_7 que resultaron 135.967, 0.003, -0.015, -1.301, 0.013, -0.012, 0.048 y -0.114 con un error estándar menor para todas las variables excepto para la constante y la variable Comedor. Asimismo se observa que la significación estadística con la prueba de Wald resultó mayor a 0.05 para todas las variables y el valor de la OR (Exp (B)) para las variables Almacén, SS.HH. y Manipulador fue mayor a 1, lo que significa que existe una asociación positiva

estadísticamente no significativa, es decir, que el incumplimiento de estos rubros se asocia con la mayor ocurrencia de encontrar *Listeria* spp.* En cambio, el incumplimiento de los rubros Cocina, Comedor, Preparación y Análisis Microbiológico no se asocia con la mayor ocurrencia de encontrar *Listeria* spp.* Cabe indicar que el rubro Agua y Desagüe fue eliminado del análisis, ya que, es una variable constante o tiene correlaciones perdidas.

Tabla N° 21. Coeficientes de la ecuación de Regresión Logística entre la Detección de *Listeria* spp.* con las variables Almacén, Cocina, Comedor, SS.HH, Preparación, Manipulador y Análisis Microbiológico

Variables		B	E.T.	Wald	gl
Paso 1	Almacén (β_1)	0.003	0.017	0.029	1
	Cocina (β_2)	-0.015	0.036	0.172	1
	Comedor (β_3)	-1.301	461.080	0.000	1
	SS.HH (β_4)	0.013	0.034	0.140	1
	Preparación (β_5)	-0.012	0.021	0.318	1
	Manipulador (β_6)	0.048	0.042	1.342	1
	Análisis Microbiológico (β_7)	-0.114	0.102	1.268	1
	Constante (β_0)	135.967	46108.047	0.000	1

* Incluye *Listeria monocytogenes*.

Variables		Sig.	Exp(B)	I.C. 95% para EXP(B)	
				Inferior	Superior
	Almacén (β_1)	0.866	1.003	0.971	1.036

Paso 1	Cocina (β_2)	0.678	0.985	0.918	1.058
	Comedor (β_3)	0.998	0.272	0.000	N.D.
	SS.HH (β_4)	0.708	1.013	0.947	1.084
	Preparación (β_5)	0.573	0.988	0.947	1.030
	Manipulador (β_6)	0.247	1.050	0.967	1.139
	Análisis Microbiológico (β_7)	0.260	0.892	0.731	1.088
	Constante (β_0)	0.998	1.121E+59	N.D.	N.D.

N.D.: No se determinó. * Incluye *Listeria monocytogenes*

Se obtuvo que el R^2 de Cox y Snell fue 0.054, esto indica que el 5,40% de la variación en el resultado de detección de *Listeria spp.** es explicada por las siete variables introducidas en el modelo (Tabla N° 22).

Tabla N° 22. Resumen de la Regresión Logística entre la Detección de *Listeria spp. con las variables Almacén, Cocina, Comedor, SS.HH., Preparación, Manipulador y Análisis Microbiológico**

Paso	-2 log de la verosimilitud	R^2 de Cox y Snell
1	38.505	0.054

* Incluye *Listeria monocytogenes*

En la Tabla N° 23 se muestra que el coeficiente de determinación es $R^2 = 0.141$ que significa que el 14,10% del recuento de *Staphylococcus aureus* es explicado por las variables independientes. Así mismo se obtuvo un error típico de estimación menor lo cual expresa que existe una buena relación entre las variables. Además se obtuvo el valor de los coeficientes β_0 , β_1 , β_2 , β_3 , β_4 , β_5 , β_6 y β_7 con un error estándar de estimación menor y el p-

valor fue significativo para las variables constante, Preparación y Análisis Microbiológico demostrando que influyen significativamente en el recuento de *S. aureus* (Tabla N° 24). Cabe indicar que el rubro Agua y Desagüe fueron eliminados del análisis, ya que, es una variable constante o tiene correlaciones perdidas.

Tabla N° 23. Regresión múltiple entre el Recuento de *Staphylococcus aureus* y las variables Almacén, Cocina, Comedor, SS.HH., Preparación, Manipulador y Análisis Microbiológico

Regresión	R	R ²	Error estándar de la estimación
Múltiple	0.376	0.141	2.976

Tabla N° 24. Coeficientes de la Regresión Múltiple entre el Recuento de *Staphylococcus aureus* y las variables Almacén, Cocina, Comedor, SS.HH., Preparación, Manipulador y Análisis Microbiológico

Regresión múltiple	Coeficientes no estandarizados		Sig.
	β	Error estándar	
(Constante)	45.603	4.482	0.000
Almacén (X ₁)	-0.018	0.012	0.133
Cocina (X ₂)	-0.033	0.030	0.280
Comedor (X ₃)	0.009	0.031	0.777
SS.HH. (X ₄)	-0.015	0.026	0.557
Preparación (X ₅)	0.035	0.015	0.025
Manipulador (X ₆)	-0.016	0.022	0.487
Análisis Microbiológico (X ₇)	0.169	0.073	0.023

En las Figuras N° 27 y 28 se observa la distribución de los resultados en la recta de regresión ajustada, donde los coeficientes obtenidos nos indican que los rubros Preparación y Análisis Microbiológico están relacionadas directamente al recuento de *S. aureus* y que

por cada aumento en el puntaje de las variables se espera un cambio de 0.035 y 0.169 en el recuento de *S. aureus*.

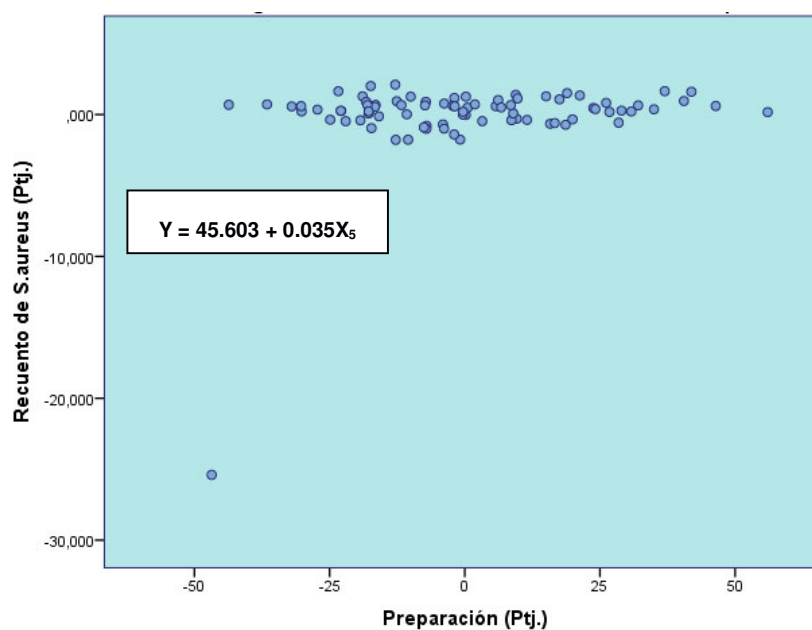


Figura N° 27. Curva de Regresión entre el Recuento de *S. aureus* vs. Preparación

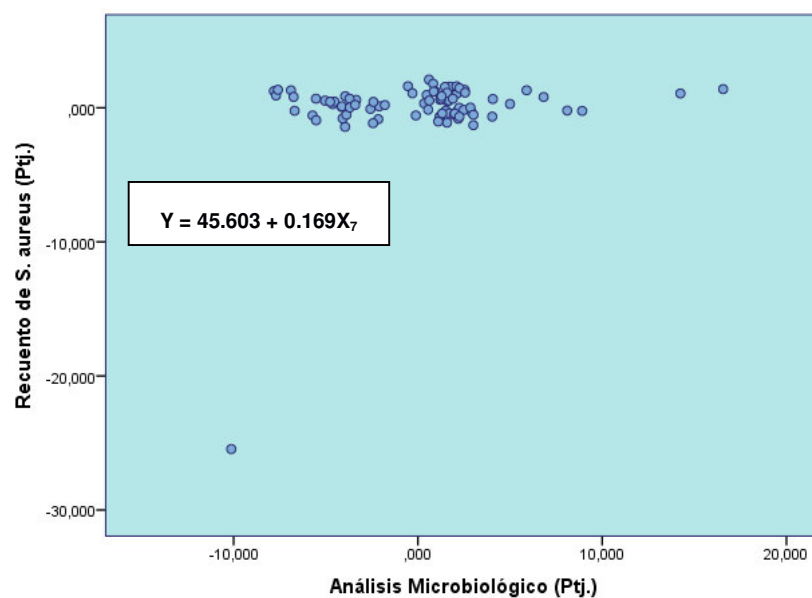


Figura N° 28. Curva de Regresión entre el Recuento de *S. aureus* vs. Análisis Microbiológico

En la Tabla N° 25 se observa que hay una correlación positiva entre el recuento de *S. aureus* con las variables Preparación y Análisis Microbiológico, siendo mayor la correlación con esta última. Así mismo se evidencia una correlación negativa no significativa con las variables Almacén, Cocina, Comedor, SS.HH. y Manipulador.

Tabla N° 25. Coeficientes de Correlación de Pearson entre el Recuento de *S. aureus* y las variables Almacén, Cocina, Comedor, SS.HH., Preparación, Manipulador y Análisis Microbiológico

		Almacén	Cocina	Comedor	SS.HH.
Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	Correlación de Pearson	-0.175	-0.121	-0.046	-0.099
	Sig. (bilateral)	0.113	0.277	0.677	0.374
	N	83	83	83	83
		Preparación	Manipulador	Análisis Microbiológico	
Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>	Correlación de Pearson	0.083	-0.045	0.220*	
	Sig. (bilateral)	0.454	0.689	0.046	
	N	83	83	83	

*. La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

En la Tabla N° 26 se muestra varios estadísticos donde el nivel de significancia de la prueba de Chi-cuadrado es 0.172, esto quiere decir que se acepta la hipótesis nula de independencia y en consecuencia se afirma que los resultados de la Detección de *Listeria* spp.* y *Salmonella* sp. son independientes y que no existe relación entre ellas.

Tabla N° 26. Prueba de Chi-cuadrado entre la Detección de *Listeria* spp.* y *Salmonella* sp.

	Valor	gl	Sig. asintótica (bilateral)	Sig. exacta (bilateral)	Sig. exacta (unilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	1.863	1	0.172	-	-

* Incluye *Listeria monocytogenes*

En la Tabla N° 27 se observa que el nivel de significación estadística en Ausencia/25g y Presencia/25g de *Salmonella* sp. fue nulo según los contrastes de Kolmogorov-Smirnov, y Shapiro-Wilk. A partir de esto se determina que el Recuento de *S. aureus* no tiene una distribución normal, debido a que, en ambos grupos el nivel de “p” es significativo (esto es, $p < 0.05$).

Tabla N° 27. Pruebas de normalidad entre el Recuento de *Staphylococcus aureus* y Detección de *Salmonella* sp.

	Detección de <i>Salmonella</i> sp.	Kolmogorov-Smirnov ^a	Shapiro-Wilk
		Sig.	Sig.
Recuento de <i>S. aureus</i>	Presencia/25g	0	0
	Ausencia/25g	0	0

a. Corrección de la significación de Lilliefors

En la Tabla N° 28 se muestra que el nivel de significancia fue 0.243, el cual es mayor que el nivel de significancia de 0.05. Demostrando que no existe relación entre el Recuento de *S. aureus* y la detección de *Salmonella* sp., ya que, la media del Recuento de *S. aureus* de Presencia/25g y Ausencia/25g de *Salmonella* sp. no son estadísticamente diferentes al nivel de significación $\alpha = 0.05$.

Tabla N° 28. Estadístico de contraste entre el Recuento de *Staphylococcus aureus* y Detección de *Salmonella* sp.

	Recuento de <i>S. aureus</i>
U de Mann-Whitney	361.000
W de Wilcoxon	2917.000
Z	-1.168
Sig. asintót. (bilateral)	0.243

En la Tabla N° 29 se indica que el nivel de significación estadística en Ausencia/25g y Presencia/25g de *Listeria* spp.* fue nulo según los contrastes de Kolmogorov-Smirnov, y Shapiro-Wilk. En base a estos resultados se determina que el Recuento de *S. aureus* no tiene una distribución normal, debido a que, en ambos grupos el nivel de “p” es significativo (esto es, $p < 0.05$).

Tabla N° 29. Pruebas de normalidad entre el Recuento de *Staphylococcus aureus* y Detección de *Listeria* spp.*

	Detección de <i>Listeria</i> spp.*	Kolmogorov-Smirnov ^a	Shapiro-Wilk
		Sig.	Sig.
Recuento de <i>S. aureus</i>	Presencia/25g	0	0
	Ausencia/25g	0	0

a. Corrección de la significación de Lilliefors. * Incluye *Listeria monocytogenes*

En la Tabla N° 30 se muestra que el nivel de significancia fue de 0.884, el cual es mayor que el nivel de significancia al 0.05. Demostrando que no existe relación entre el Recuento de *S. aureus* y la detección de *Listeria* spp.*, debido a que, la media del recuento de *S. aureus* en Presencia/25g y Ausencia/25g de *Listeria* spp.* no son estadísticamente diferentes al nivel de significación $\alpha = 0.05$.

Tabla N° 30. Estadístico de contraste entre el Recuento de *Staphylococcus aureus* y Detección de *Listeria* spp.*

	Recuento de <i>S. aureus</i>
U de Mann-Whitney	225.000
W de Wilcoxon	3228.000
Z	-0.146
Sig. asintót. (bilateral)	0.884

* Incluye *Listeria monocytogenes*

VI. DISCUSIÓN

El proceso de preparación de las ensaladas es bastante susceptible de contaminarse con microorganismos saprofitos y/o patógenos, ya que, generalmente no se le realiza ningún tratamiento adicional al lavado que asegure la eliminación eficaz de los microorganismos y si a esto le sumamos las malas prácticas de manipulación; esto representaría un peligro para la salud, en especial para las personas sensibles (mujeres embarazadas, neonatos, ancianos y personas con sistema inmune débil).

Respecto a la calidad microbiana se determinó que el 3,61% (03) de las pollerías resultaron “aptas” mientras que los 96,39% (80) “no aptas” (Figura N° 5). Esto se debe a que gran parte de las pollerías muestreadas resultaron no conformes para el análisis microbiológico y en proceso o no aceptable para la inspección.

En cuanto a la inspección higiénico-sanitaria se obtuvo que el 75,90% (63) resultó “en proceso”, el 20,48% (17) “no aceptable” y el 3,61% (03) “aceptable”; esto se debe a que la mayoría de pollerías cumplían parcialmente con lo requerido para los rubros Almacén, Cocina, SS.HH., Preparación y Manipulador de la ficha de inspección.

Así mismo se encontró que el 65,06% de las pollerías inspeccionadas carecían o tenían vencido el carnet sanitario, en cambio la Gerencia de Fiscalización y Control Urbano de la Municipalidad de Los Olivos sancionó al 28,26% de 46 pollerías por el mismo motivo, lo que demuestra que no se está haciendo un control riguroso a todas las pollerías.

En lo que respecta al análisis microbiológico, se obtuvo que el 97,59% (81) resultó “no conforme” y el 2,41% (02) “conforme”, el 84,34% (70) presentó más de 10^5 UFC/g de Aerobios mesófilos (Figura N° 6), el 95,18% (79) más de 10^2 NMP/g de Coliformes Totales (Figura N° 7), el 24,10% (20) más de 10 NMP/g de *Escherichia coli* (Figura N° 8), el 14,46% (12) presentó a *Salmonella* sp. (Figura N° 9), el 7,23% (06) presentó a *Listeria* spp. (Figura N° 11) siendo el 3,61% (03) *Listeria monocytogenes* (Figura N°

13), y el 21,69% (18) más de 10 UFC/g de *Staphylococcus aureus* (Figura N° 10). Estos resultados difieren con el estudio realizado por De Oliveira *et al.*, (2011), en Brasil, donde de 162 vegetales listos para consumirse encontró que el 81,50% presentó Coliformes Totales, el 53,10% *E. coli*, el 3,70% *Listeria monocytogenes* y el 1,20% *Salmonella* sp; y en otro estudio, realizado por Fortunato *et al.*, (2014) en Brasil, se reportó que el 100% de 9 muestras de ensaladas crudas presentaron más de 100 UFC/g de Aerobios mesófilos.

En el 2011, en un estudio de 15 muestras de ensaladas procedentes de Brasil se encontró que el 100% tenía más de 1100 NMP/g de Coliformes Totales, el 100% presentó *Salmonella* sp. y el 66,6% *Escherichia coli* (Araujo *et al.*, 2011).

De lo expuesto anteriormente se puede ver que los resultados obtenidos en cuanto al recuento de Aerobios mesófilos, NMP de coliformes y NMP de *E. coli* son menores comparado con los resultados obtenidos por De Oliveira *et al.*, (2011); Fortunato *et al.*, (2014) y Araujo *et al.*, (2011). En cambio, es mayor o similar el porcentaje de presencia de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* sp. comparado con lo reportado por De Oliveira *et al.*, (2011) En ningún estudio se reportó a *Staphylococcus aureus*, mientras que en este estudio se superó el límite permisible.

Estudios realizados a nivel internacional reportan que en el 2012 de 101 ensaladas mixtas procedentes de Portugal el 1,32% presentó a *L. monocytogenes* (Santos *et al.*, 2012). Mientras que, de 152 muestras de lechugas listas para consumir procedentes también de Brasil el 2,00% presentó a *L. monocytogenes*, los aislados correspondieron al serotipo 4b (Sant'Ana *et al.*, 2012) y en el 2015 en un estudio de 261 ensaladas listas para consumir procedentes de Turquía se reportó que el 5,7% tenía *L. monocytogenes* (Gurler *et al.*, 2015). Por lo antes dicho, a nivel internacional se tiene que es menor la

presencia de *Listeria monocytogenes* en las ensaladas a comparación de lo obtenido en el presente estudio con excepción del trabajo realizado por Gurler et al., (2015).

A nivel nacional, en el 2004 se evaluaron 50 muestras de verduras de las cuales 5 correspondían a lechugas, resultando que el 20% de estas fueron positivas a *L. innocua* (Centurión, 2004). Mientras que en el periodo del 2010 al 2011, en un estudio para determinar la frecuencia de *L. monocytogenes* en hortalizas expendidas en tres mercados de Trujillo, se obtuvo que el 29,17% de 48 lechugas fue positiva a *L. monocytogenes* (Pérez y Chávez, 2011). De esto se desprende que es mayor la contaminación de las hortalizas por *Listeria monocytogenes* que las ensaladas.

De lo mencionado en los párrafos anteriores, se deduce que hay una inadecuada manipulación y posiblemente se evidencia la utilización de materia prima contaminada en la elaboración de las ensaladas, puesto que se encontró un elevado porcentaje de Aerobios mesófilos, Coliformes y *E. coli*. Además se encontró un porcentaje significativo de *Staphylococcus aureus*, y esto posiblemente se deba a que algún manipulador presento una cortadura o un raspón, o que el manipulador entro en contacto con una superficie que tenía la bacteria y fue así como contamina las ensaladas que potencialmente podrían ocasionar intoxicaciones en los comensales.

Datos de la literatura señalan que hay mayor presencia en las hortalizas de los patógenos *Salmonella* sp. y *L. monocytogenes* que en las ensaladas. Esto significa que no se está realizando una adecuada preparación, partiendo desde la recepción de la materia prima, en la cual el responsable no estaría realizando una evaluación sensorial y fisicoquímica exhaustiva que le permita decidir si acepta o rechaza los insumos de manera apropiada (MINSA, 2005). Muy importante también las condiciones de almacenamiento de las hortalizas, mediante las inspecciones se pudo ver que en gran parte de las pollerías los anaqueles no estaban a una distancia mínima de 0,20m del

piso, como lo señala el MINSA, (2005) por lo que se facilita el contacto con el piso y de esa manera con algún vector.

Por otra parte al consultársele a los manipuladores como realizaban el proceso de preparación de las ensaladas, muchos señalaron que lavaban las verduras, tales como lechugas, zanahorias, tomates, pepinos, entre otros; pero no lo hacían de la manera correcta, que es primero deshojar la lechuga bajo el chorro de agua para lograr una acción de arrastre de los huevos de parásitos, insectos y contaminantes (MINSA, 2005) a este proceso no se le acompañaba de la desinfección de las hortalizas ya sea por desconocimiento o dejadez de los manipuladores. Además no había higiene en los equipos de trabajo, presencia de vectores alrededor de los alimentos por la cercanía de los depósitos de basura que no estaban tapados, no se utilizaba la indumentaria apropiada para la preparación de los alimentos y si a esto le sumamos los malos hábitos higiénicos; esto explicaría porque se contaminaban las ensaladas. Si bien estas podrían ser las causas de cómo se contaminan las ensaladas, también habría que tomar en cuenta las fuentes de contaminación de las hortalizas dentro de las que destacan: el riego con aguas residuales domésticas, el abono con heces de humanos o animales, el lavado post-cosecha con agua contaminada y la deficiente protección durante el transporte y almacenamiento.

Se determinó mediante el análisis de regresión múltiple que la inspección Higiénico-Sanitaria y el análisis microbiológico influyen en un 100% sobre la calidad microbiana de las ensaladas (Tablas N° 6 y 7), y existe una correlación directa con ambas variables pero es más fuerte la correlación con el análisis microbiológico (Tabla N° 8). Esto demuestra que ambas variables son determinantes para establecer si las ensaladas son “aptas” o no para el consumo humano, ya que, se garantiza que el producto que

ofrecen sea de buena calidad sin dejar de lado que se cumpla con las medidas que establece el MINSA, (2005) para el establecimiento de las pollerías.

Se obtuvo que los rubros de la inspección Higiénico-Sanitaria influyen en un 94,80% sobre el resultado de la inspección (Tablas N° 9 y 10), siendo los rubros Almacén, Cocina, SS.HH., Preparación y Manipulador quienes más influyen sobre la inspección. Además existe una correlación directa con todos los rubros pero es más fuerte la correlación con los rubros mencionados anteriormente (Tabla N° 11), ya que, al no cumplirse con las medidas que establece el MINSA, (2005) se obtenía que eran “no aceptables”, y si se cumplía de manera parcial se obtenía “en proceso”, y si se cumplía totalmente era “aceptable”.

Se obtuvo que el recuento de Aerobios mesófilos, recuento de *Staphylococcus aureus*, NMP de Coliformes y NMP de *E. coli* influyen en un 100% sobre el análisis microbiológico (Tablas N° 12 y 13), y existe una correlación directa con todos, sin embargo, es más fuerte la correlación con el recuento de Aerobios mesófilos y NMP de Coliformes y *E. coli* (Tabla N° 14). Esto se debe a que se obtuvo un elevado porcentaje de muestras que superaron los límites permisibles para Aerobios mesófilos y Coliformes que coinciden con el elevado porcentaje de pollerías que fueron “no conformes”, mientras que si bien no se obtuvo un elevado porcentaje de pollerías que superaron el límite permisible para *E. coli*, este fue mayor que para *S. aureus* dentro de las pollerías “no conformes”. Además se obtuvo que la detección de *Salmonella* sp. y *Listeria monocytogenes* no influyen significativamente en el resultado del análisis microbiológico (Tablas N° 16 y 18), porque, no existe asociación entre ambos resultados, es decir, al haber un elevado porcentaje de pollerías que resultaron “no conformes” se esperaba que sea alto el porcentaje de ensaladas con presencia de dichos patógenos; sin embargo esto no implica que no sea representativo.

Se demostró que los rubros de la inspección y el análisis microbiológico no influyen significativamente sobre la detección de *Salmonella* sp. Sin embargo, las variables Almacén, SS.HH., Preparación, Manipulador y Análisis Microbiológico tienen una asociación positiva estadísticamente no significativa, esto significa que el incumplimiento en estos rubros se asocia con la mayor ocurrencia de encontrar *Salmonella* sp. y viceversa. En cambio, con los rubros Cocina y Comedor existe una asociación negativa estadísticamente no significativa, es decir, que el incumplimiento en estos rubros no se asocia con la mayor ocurrencia de encontrar *Salmonella* sp (Tabla N° 19).

Se demostró que los rubros de la inspección y el análisis microbiológico no influyen significativamente sobre la detección de *Listeria* spp. ni de *L. monocytogenes*. No obstante, los rubros Almacén, SS.HH. y Manipulador tienen una asociación positiva estadísticamente no significativa, esto es que el incumplimiento de estos rubros se asocia con la mayor ocurrencia de encontrar *Listeria* spp. y *L. monocytogenes*. Mientras que con los rubros Cocina, Comedor, Preparación y Análisis Microbiológico existe una asociación negativa estadísticamente no significativa, es decir, que el incumplimiento en estos rubros no se asocia con la mayor ocurrencia de encontrar *Listeria* spp. ni *L. monocytogenes* (Tabla N° 21)

Se demostró que los rubros de la inspección y el análisis microbiológico influyen en un 14,10% sobre el recuento de *S. aureus* (Tablas N° 23 y 24), y existe una correlación positiva con las variables Preparación y Análisis microbiológico, siendo mayor la correlación con esta última. Así mismo se evidencia una correlación inversa no significativa con las variables Almacén, Cocina, Comedor, SS.HH. y Manipulador (Tabla N° 25). Esto significa que el incumplimiento de las condiciones de Preparación y la “no conformidad” del Análisis Microbiológico coinciden con las muestras que

superaron los límites permisibles para *S. aureus*; en contraste el incumplimiento de los rubros Almacén, Cocina, Comedor, SS.HH. y Manipulador no se asocia con las muestras que superaron los límites permisibles para *S. aureus*.

Se obtuvo que no existe relación entre la presencia de *Salmonella* sp. con *Listeria* spp. y *L. monocytogenes* (Tabla N° 26), ya que, los resultados obtenidos son independientes, es decir, cuando hay presencia de *Listeria* spp. y *L. monocytogenes* puede haber o no presencia de *Salmonella* sp. Del mismo modo se encontró que no existe relación entre el recuento de *S. aureus* y la presencia de *Salmonella* sp. (Tabla N° 28), esto significa que cuando se supere el límite permisible de *S. aureus* puede que esté presente o no *Salmonella* sp. Por último, se obtuvo que no existe relación entre la presencia de *Listeria* spp. y *Listeria monocytogenes* con el recuento de *S. aureus* (Tabla N° 30), porque, los resultados obtenidos son independientes, esto quiere decir que cuando se supere el límite permisible de *S. aureus* puede que esté presente o no *Listeria* spp. y *L. monocytogenes*.

En ningún caso, se observó que los rubros agua y desagüe influyeran de manera directa o inversa sobre los parámetros analizados anteriormente.

VII. CONCLUSIONES

- Se determinó que la calidad microbiana de las ensaladas fue el 96,39% (80) “no apto” y el 3,61% (03) “apto” para el consumo humano y *Listeria monocytogenes* estuvo presente en el 3,61% (03) de las ensaladas que se expenden en 83 pollerías del distrito de Los Olivos, constituyendo un serio riesgo para la salud de los comensales.
- En la Inspección Higiénico-Sanitaria se obtuvo que el 75,90% (63) resultó “En Proceso”, el 20,48% (17) “No Aceptable” y el 3,61% (03) “Aceptable”.
- Se obtuvo que el 84,34% (70) presentó más de 10^5 UFC/g de Aerobios Mesófilos (Figura N° 6).
- El 95,18% (79) presentó más de 10^2 NMP/g de Coliformes (Figura N° 7).
- El 24,10% (20) presentó más de 10 NMP/g de *Escherichia coli* (Figura N° 8).
- El 14,46% (12) presentó a *Salmonella* sp. (Figura N° 9).
- El 21,69% (18) presentó más de 10 UFC/g de *Staphylococcus aureus* (Figura N° 10).
- Se logró aislar a *Listeria* spp. en el 7,23% (06) de las muestras siendo el 3,61% (03) *Listeria monocytogenes* (Figuras N° 11 y 13) y se identificó mediante las pruebas bioquímicas de Tinción Gram, prueba de catalasa, prueba de motilidad a 25 y 37°C y prueba de oxidasa; y se confirmó a través del PCR a tiempo real.
- Se obtuvo que la inspección Higiénico-Sanitaria y el análisis microbiológico influyen en un 100% sobre la calidad microbiana.
- Se obtuvo que los rubros de la inspección Higiénico-Sanitaria influyen en un 94,80% sobre el resultado de la inspección (Tablas N° 9 y 10), siendo los rubros Almacén, Cocina, SS.HH., Preparación y Manipulador quienes más influyen sobre la inspección.

- Se obtuvo que el recuento de Aerobios mesófilos, recuento de *Staphylococcus aureus*, NMP de Coliformes y NMP de *E. coli* influyen en un 100% sobre el análisis microbiológico (Tablas N° 12 y 13). Mientras que la detección de *Salmonella* sp. y *Listeria monocytogenes* no influyen significativamente en el resultado del análisis microbiológico (Tablas N° 16 y 18).
- Se determinó que los rubros de la inspección y el análisis microbiológico influyen en un 14,10% sobre el recuento de *S. aureus* (Tablas N° 23 y 24); sin embargo, no influyen significativamente sobre la detección de *Salmonella* sp. (Tabla N° 19) ni de *Listeria* spp. ni *L. monocytogenes* (Tabla N° 21).
- Se obtuvo que no existe relación entre la presencia de *Salmonella* sp. con *Listeria* spp. y *L. monocytogenes* (Tabla N° 26). Del mismo modo se encontró que no existe relación entre el recuento de *S. aureus* y la presencia de *Salmonella* sp. (Tabla N° 28) ni entre la presencia de *Listeria* spp. y *Listeria monocytogenes* con el recuento de *S. aureus* (Tabla N° 30).

VIII. RECOMENDACIONES

- ❖ La Subgerencia de Prevención y Promoción de la Salud de la municipalidad de Los Olivos debe poner especial énfasis en el control de los patógenos *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* sp., ya que, se encontró en cantidades significativas en las ensaladas y esto es un reflejo de que gran parte de los establecimientos inspeccionados preparan las ensaladas sin ningún tratamiento adicional al lavado o realizan el proceso de desinfección de manera incorrecta.
- ❖ Fomentar el programa “Pollería Saludable” a fin de que las pollerías cumplan con todas las medidas establecidas por el MINSA/DIGESA, (2003) que no solamente implica realizar la inspección sanitaria sino complementarla con el análisis microbiológico de una muestra representativa. Con esto no solo se lograría que los establecimientos cumplan con las medias sanitarias sino que además disminuiría la contaminación de los alimentos, especialmente de las ensaladas; y así evitar el riesgo a la salud de los comensales.
- ❖ Incluir programas de capacitación en la preparación de alimentos con riesgo de tener *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* sp., en especial a este tipo de establecimientos que tiene gran acogida por los comensales.
- ❖ Si bien es cierto la normativa nacional no especifica la detección de *Listeria monocytogenes* en ensaladas crudas, es necesario que se asegure que estos alimentos no representen riesgo real de Listeriosis.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ANDREWS, Wallace *et al.* BAM: *Salmonella*. *Bacteriological analytical manual*. 2016.

[Citado 10-10-2016]. Disponible en <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm070149.htm>.

ARAUJO, Magno *et al.* Análise microbiológica de saladas servidas em restaurantes da cidade de Pombal – PB. *Caderno verde de agroecología e desenvolvimento sustentável* [en línea]. 2011, vol. 1, nº. 1 [citado 10 de enero del 2017] p. 1. Disponible en <http://www.gvaa.com.br/revista/index.php/CVADS/article/view/947>.

BENNETT, Reginald *et al.* BAM: *Staphylococcus aureus*. *Bacteriological analytical manual*. 2016. [Citado 20-04-2016]. Disponible en <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071429.htm>.

CANO, Sara. “Re: Métodos de análisis microbiológico. Normas ISO, UNE” [en línea]. En: Analiza calidad [en línea]. Burgos (España), 05 de abril del 2006 [citado 12 de marzo del 2016]. Disponible en: internet: <http://www.analizacalidad.com/docftp/fi148anmic.pdf>.

CENTURION PUMA, Mabel Susana. “Determinación de la incidencia de *Listeria monocytogenes* en pollos frescos y verduras frescas obtenidos en mercados y centros de abastecimientos de Lima Metropolitana”. Benedicta López. Tesis Título Profesional. UNMSM, EP Farmacia y Bioquímica, Lima, 2004.

CORAL ONCOY, Beatriz Elizabeth. “Evaluación de la influencia de los procesos naturales y las actividades humanas en la calidad del agua del río Paria, distrito de Independencia -Huaraz - 2013-2014”. Asesor: Edell Aliaga. Tesis Grado de Maestro. UNASAM, Fac. Ciencias e ingeniería, Ancash, 2014.

CURTIS, G. y LEE, W. Culture media and methods for the isolation of *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology* [en línea]. 1995, vol. 26, nº 1, [citado 16 de febrero del 2017] p. 1-13. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0168160593E0027O>.

DE CURTIS, María *et al.* *Listeria monocytogenes* en vegetales mínimamente procesados. *Scielo* [en línea]. 2002, vol. 52, nº. 3, [citado 16 de febrero del 2017]. Disponible en http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222002000300009.

DE OLIVEIRA, María *et al.* Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil. *Elsevier* [en línea]. 2011, vol. 22, [citado 10 de marzo del 2017] p. 1400-1403. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S095671351100079X>.

DÌAZ, Jacobo. *Guía Práctica del Curso de Bioestadística Aplicada a las Ciencias de la Salud* [en línea]. Madrid: Instituto Nacional de Gestión Sanitaria, 2011 [citado 10 de abril del 2016]. Disponible en http://www.ingesa.msssi.gob.es/estadEstudios/documPublica/internet/pdf/Guia_Practica_Bioestadistica.pdf.

DOYLE, Michael *et al.* *Microbiología de los Alimentos, Fundamentos y fronteras*. Zaragoza: ACRIBIA, 2001. 371-393, 355-369 p. ISBN. 84-200-0933-4.

DOYLE, M. Virulence characteristics of *Listeria monocytogenes*. *Food Research Institute* [en línea]. 2001, [citado 16 de febrero del 2017] p. 1-13. Disponible en https://fri.wisc.edu/files/Briefs_File/virulencelmono.pdf.

DOROZYNSKI, Alexander. Seven die in French *Listeria* outbreak. *Revista BMJ* [en línea]. 2000, vol. 320, nº. 7235, [citado 16 de febrero del 2017] p. 601. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1117648/>.

EDWARDS, P. y EWING'S, W. *Identification of Enterobacteriaceae*. 4th ed. New York: BURGESS, 1972. 536 p. ISBN. 0444009817.

ENVIRONMENT AGENCY. *The Microbiology of Drinking Water. Part 1 – Water Quality and Public Health. Methods for the Examination of Waters and Associated Materials* [en línea]. Bristol, 2002 [citado 15 de enero del 2017]. Disponible en <https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/316838/mdwpart1.pdf>.

FENG, Peter *et al.* BAM: Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. *Bacteriological analytical manual*. 2013. [Citado 10-03-2016]. Disponible en <<https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>>.

FERNÁNDEZ, Eduardo. *Microbiología e inocuidad de los alimentos*. 1ra ed. Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro, 2000. 923p. ISBN. 970- 92630-0-5.

FORSYTHE, Stephen. *Alimentos Seguros: Microbiología*. Zaragoza: ACRIBIA, 2000. 93 p. ISBN. 8420010170.

FORTUNATO, Andressa *et al.* Análise microbiológica de saladas cruas em restaurantes de Teresina–PI. *Revista Interdisciplinar* [en línea]. 2014, vol. 7, nº. 2 [citado 10 de enero del 2017] p. 11-17. Disponible en <<http://revistainterdisciplinar.uninovafapi.edu.br/index.php/revinter/article/view/578>>.

GURLER, Zekiet *al.* The microbiological quality of ready-to-eat salads in Turkey: A focus on *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes*. *Elsevier* [en línea]. 2015, vol. 196, [citado 10 de febrero del 2017] p. 79-83. Disponible en <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160514005728>>.

HAMMER, K.A. *et al.* Antimicrobial activity of essentials oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology* [en línea]. 1999, vol. 86, p. 985-990. Disponible en <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2672.1999.00780.x/abstract>>.

HARRIS, Linda. *Listeria monocytogenes* CLASS NOTES PHR 150. *Department of Food Science and Technology. University of California* [en línea]. 2001, [citado 16 de enero del 2017] p. 7. Disponible en [https://www.cdfa.ca.gov/ahfss/Animal Health/PHR250/2006/L. monocytogenes 06.pdf](https://www.cdfa.ca.gov/ahfss/Animal%20Health/PHR250/2006/L._monocytogenes_06.pdf).

HITCHINS, Anthony *et al.* BAM: Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*. *Bacteriological analytical manual*. 2016. [Citado 15-03-2017]. Disponible en <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071400.htm>.

HITCHINS, Anthony. Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods. *Bacteriological analytical manual*. 2002, p. 1-29. [citado 15-03-2016]. Disponible en <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-07/documents/fda-bam-chap10.pdf>.

HOF, H. *et al.* Management of Listeriosis. *Clinical Microbiology Reviews* [en línea]. 1997, vol. 10, n°. 2, [citado 16 de febrero del 2017] p. 345-357. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC172923/>.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. *Microorganismos de los alimentos 6. Ecología microbiana de los productos alimentarios*. 2nd ed. Zaragoza: ACRIBIA, 2001. 69-111, 201-229 p. ISBN. 8420009342, 9788420009346.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS. *Microorganismos de los alimentos 1. Su significado y métodos de enumeración*. 2nd ed. Toronto: ACRIBIA S.A. Zaragoza, 2000. 464 p. ISBN. 9788420009087.

INOUE, Shigeharu *et al.* Antibacterial activity of essential oils and their major constituents against respiratory tract pathogens by gaseous contact. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* [en línea]. 2001, vol. 47, n°. 5, [citado 05 de mayo del

2016] p. 565-573. Disponible en

<https://academic.oup.com/jac/article/47/5/565/858508/Antibacterial-activity-of-essential-oils-and-their->.

JAY, J. *Microbiología moderna de los alimentos*. 4th ed. Zaragoza: ACRIBIA, 2002. 457-480 p. ISBN. 9788420009704.

JULIÁN, Agustín *et al.* Infecciones por *Listeria monocytogenes* en el adulto. Aspectos clínicos y microbiológicos de una enfermedad cambiante. *Elsevier* [en línea]. 2001, vol. 19, n°. 7, [citado 16 de febrero del 2017] p. 297-303. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X01726493>.

KONEMAN, E. *et al.* *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. 6th ed. Philadelphia: LINPCOTT J.B., 2006. 1565 p. ISBN. 0781730147, 9780781730143.

LYYTIKÄINEN, O. *et al.* An Outbreak of *Listeria monocytogenes* Serotype 3a Infections from Butter in Finland. *J Infect Dis* [en línea]. 2000, vol. 181, n°. 5, [citado 16 de febrero del 2017] p. 1838-1841. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10823797>.

MICHANIE, Silvia. *Listeria monocytogenes*. La bacteria emergente de los 80. *Ganados& Carnes* [en línea]. 2004, n°. 18, [citado 20 de febrero del 2017] p. 34-37. Disponible en <http://bpmvhaccp.com.ar/publicaciones/2.%20Listeria%20monocytogenes.pdf>.

MILLIPORE. Análisis microbiológico. *Millipore catalogue*. Madrid, 2005.

MINISTERIO DE SALUD. *Norma sanitaria para el funcionamiento de restaurantes y servicios afines*. RM N° 363. Lima, 2005.

MINISTERIO DE SALUD / DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD AMBIENTAL. *Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano*. NTP 071. Lima: Súper Grafica E.I.R.L., 2003.

MIRÒN, Manuel *et al.* Coma vigil tras meningitis por *Listeria monocytogenes*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [en línea]. 2002, vol. 20, n°. 3, [citado 16 de febrero del 2017] p. 127-128. Disponible en <http://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-coma-vigil-tras-meningitis-por-S0213005X02727638>.

MONGE, Rafael y ARIAS-ECHANDI, María. Presence of *Listeria monocytogenes* in fresh salad vegetables. *Revista Biomédica* [en línea]. 1999, vol. 10, [citado 10 de marzo del 2017] p. 29-31. Disponible en <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb991015.pdf>.

MÜLLER, Gunther. *Microbiología de los alimentos vegetales*. Zaragoza: ACRIBIA EDITORIAL, 1981. 152-153 p. ISBN. 9788420004723.

MURRAY, P. *et al.* *Manual of Clinical Microbiology*. 8th ed. Washington, DC: ASM Press, 2003. 2322 p. ISBN. 1555812554 9781555812553

NELSON, Jennifer *et al.* FoodNet survey of food use and practices in long-term care facilities. *Journal of Food Protection* [en línea]. 2008, vol. 71, n°. 2, [citado 12 de marzo del 2016] p. 365-372. Disponible en <http://jfoodprotection.org/doi/pdf/10.4315/0362-028X-71.2.365?code=fopr-site>.

NIE, Norman. *IBM SPSS Statistics* [en línea]. HADLAI, C. y BENT, D. Versión 24. EE.UU, 2016 [ref. de 15-03-2017]. Disponible en web: <http://www-01.ibm.com/support/docview.wss?uid=swg24041224>.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. *Guías para la calidad del agua potable*. 3rd ed. Ginebra: Biblioteca de la OMS, 2006. 398 p. ISBN. 9241546964.

PAREDES PERALTA, Ángela Patricia. "Implementación del protocolo para la determinación de Coliformes Totales y *E. coli* en Agar Chromocult para la Asociación Municipal de Acueductos Comunitarios AMAC". Asesor: Luz Ramírez. Tesis Título Profesional. UTP, EAP Química, Bogotá, 2014.

PARUCH, Adam y MAEHLUM, Trond. Specific features of *Escherichia coli* that distinguish it from coliform and thermotolerant coliform bacteria and define it as the most accurate indicator of faecal contamination in the environment. *Elsevier* [en línea]. 2012, vol. 23, p. 140-142. Disponible en <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1470160X12001343>.

PAYÁN, Andrey y ASTUDILLO, Miryan. Listeriosis neonatal: ¿enfermedad poco frecuente o no diagnosticada? Enfoque microbiológico. *Colombia Medica* [en línea]. 1994, vol. 25, n°. 2, [citado 16 de febrero del 2017] p. 69-72. Disponible en <http://colombiamedica.univalle.edu.co/index.php/comedica/article/view/1793>.

PERDOMO, Ingrid y MELÉNDEZ, Pilar. Determinación y aislamiento de *Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens* enterotoxigénicos a partir de alimentos. *Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas* [en línea]. 2004, vol. 33, n°. 1, [citado 13 de febrero del 2017] p. 59-69. Disponible en <http://search.proquest.com/openview/5dda36adbccf4bc69b365fd678de6b51/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2035763>.

PÉREZ, Edinson y CHÁVEZ, Milciades. Frecuencia de *Listeria monocytogenes* en tomate, zanahoria, espinaca, lechuga y rabanito, expendidos en mercados de Trujillo, Perú. *Revista "Ciencia y Tecnología"*. 2012, vol. 8, n°. 22, p. 11-21.

Perú. RESOLUCIÓN MINISTERIAL N° 591-2008-MINSA. *El Peruano*, 27 de agosto del 2008, núm. 71, p. 378827.

RAMOS BARRA, Irma De Calasanz. "Aislamiento e Identificación de *Listeria* spp. en productos hidrobiológicos frescos y procesados en nuestro litoral". Abad Flores. Informe de prácticas Pre-profesionales para optar el Título profesional. UNMSM, EAP Microbiología y Parasitología, Lima, 1991.

SACSAQUISPE, Rosa y VELÁSQUEZ, Jorge. *Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de discos de difusión* [en línea]. Lima: Instituto Nacional de Salud, 2002 [citado 20 de enero del 2017]. Disponible en <[http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/manua l%20sensibilidad.pdf](http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/-1/manua%20sensibilidad.pdf)>. ISBN. 9972-857-18-2.

SANT'ANA, Anderson *et al.* Prevalence, populations and pheno- and genotypic characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from ready-to-eat vegetables marketed in São Paulo, Brazil. *Elsevier* [en línea]. 2012, vol. 155, n°. 1-2, [citado 02 de febrero del 2017] p. 1-9. Disponible en <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160512000037>>.

SANTOS, M. *et al.* Evaluation of minimally processed salads commercialized in Portugal. *Elsevier* [en línea]. 2012, vol. 23, n°. 1, [citado 10 de marzo del 2017] p. 275-281. Disponible en <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713511002519>>.

SCHATZ, PEER. *mericon DNA Bacteria Plus Kit, mericon L. monocytogenes / Listeria spp Kit*. Berlín. HB-1842-002. 061401-061402. 2015-02.

SCHLECH, Walter y ACHESON, David. Food borne Listeriosis. *ClinInfecDis* [en línea]. 2000, vol. 31, n°. 3, [citado 16 de febrero del 2017] p. 770-775. Disponible en <<https://academic.oup.com/cid/article/31/3/770/298078/Foodborne-Listeriosis>>.

SOLÍS CASTILLO, Grecia Carolina y ALMONACID RIVAS, Oswaldo. “Estudio de pre factibilidad para la implementación de una cadena de restaurantes de pollo a la brasa en tres zonas geográficas de lima metropolitana y callao enfocada en los niveles socioeconómicos c y d”. Asesor: Carlos Romero. Tesis Título Profesional. PUCP, D. A. Ingeniería, Lima, 2013.

VANDERZANT, Carl y SPLITTSTOESSER, Don. *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. 3rd. ed. Washington: American Public Health Association, 1992. 1219 p. ISBN. 0875531733, 9780875531731.

WHITFIELD, Frank. Microbiology of food taints. *International journal of food science & technology* [en línea]. 1998, vol. 33, n°. 1, [citado 11 de enero del 2017] p. 31-51.

Disponible en <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2621.1998.00156.x/full>.

X. ANEXO 01

Resultado de la ficha de Inspección Higiénico-Sanitaria a las pollerías seleccionadas del distrito de Los Olivos.

RUBROS	PTJ	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10
ALMÁCEN											
Ordenamiento y limpieza	2	1	1	1	0	0	1	0	2	0	0
Ambiente adecuado	2	1	1	1	0	0	1	0	2	0	2
Alimentos refrigerados (0°C a 5°C)	2	0	0	2	0	0	2	0	2	2	2
Alimentos congelados(-16°C a -18°C)	2	0	0	2	0	0	2	0	0	0	2
COCINA											
Diseño adecuado	2	1	1	2	0	0	1	2	0	2	2
Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado	2	1	1	1	0	0	1	0	2	0	0
Campana extractor	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Iluminación adecuada	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ventilación adecuada	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
Malla mosquitera	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Equipo de trabajo limpio	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0
COMEDOR											
Ubicado próximo a la cocina	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado	2	2	1	2	2	2	1	2	2	2	2
SERVICIOS HIGIENICOS											
Ubicación adecuada	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
Conservación y funcionamiento	2	1	2	2	2	2	1	1	2	2	2
Limpieza	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
Facilidades para el lavado de manos	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
AGUA POTABLE Y DESAGÜE											
El agua procede de la red publica	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
El agua procede de un tanque, pozo u otros	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Las condiciones de almacenamiento de agua son adecuadas	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

RUBROS	PTJ	P11	P12	P13	P14	P15	P16	P17	P18	P19	P20
ALMÁCEN Ordenamiento y limpieza Ambiente adecuado Alimentos refrigerados (0°C a 5°C) Alimentos congelados(-16°C a -18°C)	2	2	2	2	0	2	1	0	1	1	1
	2	2	2	2	2	2	2	0	1	0	1
	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2
	2	0	0	0	2	2	2	0	0	2	2
COCINA Diseño adecuado Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado Campana extractor Iluminación adecuada Ventilación adecuada Malla mosquitera Equipo de trabajo limpio	2	0	1	2	2	2	1	1	1	2	1
	2	0	2	0	0	0	1	1	1	0	0
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1
COMEDOR Ubicado próximo a la cocina Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	2	2	2	2	2	1	1	1	2	1
SERVICIOS HIGIENICOS Ubicación adecuada Conservación y funcionamiento Limpieza Facilidades para el lavado de manos	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	2	2	2	2	2	1	1	2	2	2
	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0	1
	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0
AGUA POTABLE Y DESAGÜE El agua procede de la red publica El agua procede de un tanque, pozo u otros Las condiciones de almacenamiento de agua son adecuadas Desagüe operativo	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
PREPARACIÓN Flujo de preparación adecuado	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Lavado y desinfección de vegetales	2	0	0	0	0	2	2	0	0	0	2	0	0	2	0
Ausencia de insectos y/o roedores	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
MANIPULADOR															
Uniforme completo y limpio	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Se observa higiene personal	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0
Aplica las BPM	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Realiza exclusivamente su trabajo	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tiene carnet sanitario	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0
TOTAL	39	17	23	23	26	31	21	13	20	24	21				

RUBROS	PTJ	P21	P22	P23	P24	P25	P26	P27	P28	P29	P30
ALMÁCEN											
Ordenamiento y limpieza	2	2	0	2	1	0	0	0	2	1	2
Ambiente adecuado	2	2	0	1	1	2	2	0	2	0	2
Alimentos refrigerados (0°C a 5°C)	2	2	2	2	0	2	0	2	2	2	2
Alimentos congelados(-16°C a -18°C)	2	2	2	2	2	0	0	2	2	0	2
COCINA											
Diseño adecuado	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2
Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Campana extractor	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Iluminación adecuada	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ventilación adecuada	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Malla mosquitera	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Equipo de trabajo limpio	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1
COMEDOR											
Ubicado próximo a la cocina	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2

SERVICIOS HIGIENICOS Ubicación adecuada Conservación y funcionamiento Limpieza Facilidades para el lavado de manos	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	2	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1
AGUA POTABLE Y DESAGÜE El agua procede de la red publica El agua procede de un tanque, pozo u otros Las condiciones de almacenamiento de agua son adecuadas Desagüe operativo	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
PREPARACIÓN Flujo de preparación adecuado Lavado y desinfección de vegetales Ausencia de insectos y/o roedores	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	2	0	0	2	0	0	0	2	2	2	2
	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1
MANIPULADOR Uniforme completo y limpio Se observa higiene personal Aplica las BPM Realiza exclusivamente su trabajo Tiene carnet sanitario	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0	1
	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
TOTAL	39	34	22	27	25	22	20	23	29	22	31	31

RUBROS	PTJ	P31	P32	P33	P34	P35	P36	P37	P38	P39	P40
ALMÁCEN Ordenamiento y limpieza Ambiente adecuado Alimentos refrigerados (0°C a 5°C) Alimentos congelados(-16°C a -18°C)	2	0	1	0	0	0	1	0	0	1	2
	2	0	1	0	0	0	2	0	0	1	2
	2	2	0	2	0	0	2	2	0	2	2
	2	2	2	2	0	0	2	0	0	2	2

COCINA Diseño adecuado Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado Campana extractor Iluminación adecuada Ventilación adecuada Malla mosquitera Equipo de trabajo limpio	2	2	2	2	2	0	2	1	2	1	2	2
	2	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
COMEDOR Ubicado próximo a la cocina Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
SERVICIOS HIGIENICOS Ubicación adecuada Conservación y funcionamiento Limpieza Facilidades para el lavado de manos	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1
AGUA POTABLE Y DESAGÜE El agua procede de la red publica El agua procede de un tanque, pozo u otros Las condiciones de almacenamiento de agua son adecuadas Desagüe operativo	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
PREPARACIÓN Flujo de preparación adecuado Lavado y desinfección de vegetales Ausencia de insectos y/o roedores	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1
	2	2	2	0	1	1	0	2	0	2	2	0
	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0
MANIPULADOR Uniforme completo y limpio Se observa higiene personal Aplica las BPM Realiza exclusivamente su trabajo	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Tiene carnet sanitario	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1
TOTAL	39	25	25	24	19	16	27	22	15	28	28			

RUBROS	PTJ	P41	P42	P43	P44	P45	P46	P47	P48	P49	P50
ALMÁCEN											
Ordenamiento y limpieza	2	0	0	1	0	2	0	0	0	0	2
Ambiente adecuado	2	0	2	1	2	2	0	0	2	0	2
Alimentos refrigerados (0°C a 5°C)	2	0	0	2	2	2	0	0	2	2	2
Alimentos congelados(-16°C a -18°C)	2	0	2	0	2	2	0	0	0	2	0
COCINA											
Diseño adecuado	2	1	2	2	2	2	0	0	2	2	2
Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado	2	0	0	1	2	0	0	0	2	0	2
Campana extractor	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Iluminación adecuada	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ventilación adecuada	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1
Malla mosquitera	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Equipo de trabajo limpio	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	1
COMEDOR											
Ubicado próximo a la cocina	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
SERVICIOS HIGIENICOS											
Ubicación adecuada	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
Conservación y funcionamiento	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Limpieza	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1
Facilidades para el lavado de manos	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1
AGUA POTABLE Y DESAGÜE											
El agua procede de la red publica	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
El agua procede de un tanque, pozo u otros	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Las condiciones de almacenamiento de agua son adecuadas	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Desagüe operativo	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
PREPARACIÓN																
Flujo de preparación adecuado	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1
Lavado y desinfección de vegetales	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0
Ausencia de insectos y/o roedores	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1
MANIPULADOR																
Uniforme completo y limpio	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Se observa higiene personal	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Aplica las BPM	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Realiza exclusivamente su trabajo	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	1	1
Tiene carnet sanitario	1	1	1	0	1	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0
TOTAL	39	18	27	25	27	28	12	13	25	20	27					

RUBROS	PTJ	P51	P52	P53	P54	P55	P56	P57	P58	P59	P60
ALMÁCEN											
Ordenamiento y limpieza	2	0	1	0	2	1	1	1	0	0	1
Ambiente adecuado	2	0	1	0	2	2	1	1	2	0	2
Alimentos refrigerados (0°C a 5°C)	2	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2
Alimentos congelados(-16°C a -18°C)	2	2	0	0	0	0	2	0	2	0	2
COCINA											
Diseño adecuado	2	2	1	2	1	1	1	1	2	0	2
Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado	2	0	1	1	1	1	1	1	2	0	2
Campana extractor	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Iluminación adecuada	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ventilación adecuada	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Malla mosquitera	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Equipo de trabajo limpio	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1

COMEDOR Ubicado próximo a la cocina Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
SERVICIOS HIGIENICOS Ubicación adecuada Conservación y funcionamiento Limpieza Facilidades para el lavado de manos	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1
	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0
AGUA POTABLE Y DESAGÜE El agua procede de la red publica El agua procede de un tanque, pozo u otros Las condiciones de almacenamiento de agua son adecuadas Desagüe operativo	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
PREPARACIÓN Flujo de preparación adecuado Lavado y desinfección de vegetales Ausencia de insectos y/o roedores	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
	2	0	0	1	0	0	2	0	0	2	0	0
	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	1
MANIPULADOR Uniforme completo y limpio Se observa higiene personal Aplica las BPM Realiza exclusivamente su trabajo Tiene carnet sanitario	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0
	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0	0
TOTAL	39	21	23	19	26	24	28	20	28	12	27	

RUBROS		PTJ	P61	P62	P63	P64	P65	P66	P67	P68	P69	P70
ALMÁCEN Ordenamiento y limpieza Ambiente adecuado Alimentos refrigerados (0°C a 5°C) Alimentos congelados(-16°C a -18°C)		2	0	0	1	1	1	1	2	1	1	1
		2	0	2	1	1	1	1	2	2	1	0
		2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
		2	2	0	2	2	2	2	2	2	0	0
		2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
COCINA Diseño adecuado Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado Campana extractor Iluminación adecuada Ventilación adecuada Malla mosquitera Equipo de trabajo limpio		2	1	1	2	1	2	1	1	1	2	1
		2	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1
COMEDOR Ubicado próximo a la cocina Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
SERVICIOS HIGIENICOS Ubicación adecuada Conservación y funcionamiento Limpieza Facilidades para el lavado de manos		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
		1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1
		1	1	1	0	0	0	1	1	1	0	0
AGUA POTABLE Y DESAGÜE El agua procede de la red publica El agua procede de un tanque, pozo u otros Las condiciones de almacenamiento de agua son adecuadas Desagüe operativo		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
PREPARACIÓN Flujo de preparación adecuado		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Lavado y desinfección de vegetales	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Ausencia de insectos y/o roedores	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MANIPULADOR																								
Uniforme completo y limpio	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Se observa higiene personal	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Aplica las BPM	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Realiza exclusivamente su trabajo	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Tiene carnet sanitario	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TOTAL	39	22	22	23	22	22	22	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24	20

RUBROS	PTJ	P71	P72	P73	P74	P75	P76	P77	P78	P79	P80
ALMÁCEN											
Ordenamiento y limpieza	2	0	0	1	0	0	0	0	1	0	2
Ambiente adecuado	2	0	0	2	2	0	0	0	2	0	2
Alimentos refrigerados (0°C a 5°C)	2	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0
Alimentos congelados(-16°C a -18°C)	2	0	2	2	2	0	0	2	2	2	2
COCINA											
Diseño adecuado	2	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2
Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado	2	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0
Campana extractor	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Iluminación adecuada	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Ventilación adecuada	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Malla mosquitera	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Equipo de trabajo limpio	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
COMEDOR											
Ubicado próximo a la cocina	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado	2	1	2	2	2	2	2	2	1	2	2

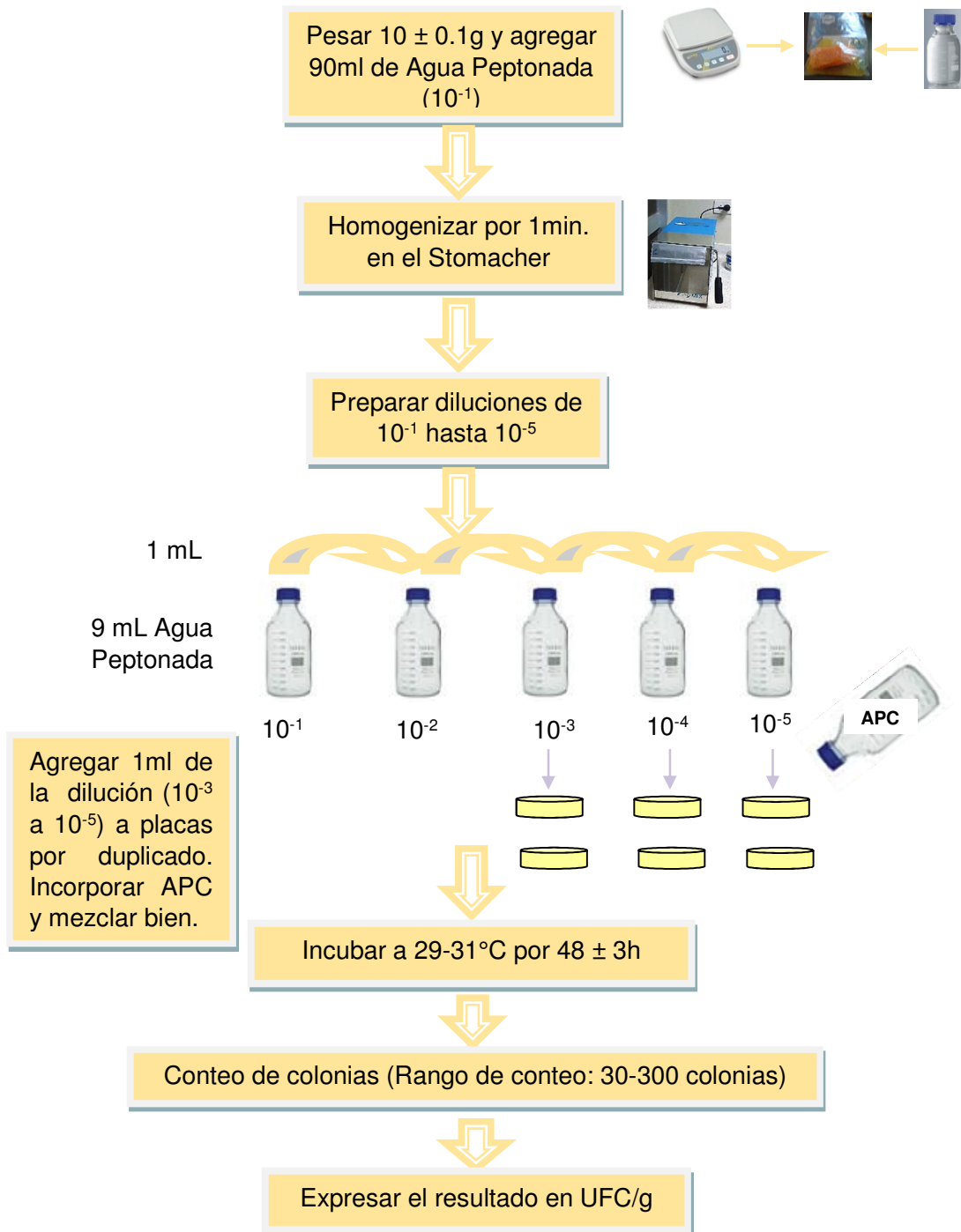
COCINA Diseño adecuado Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado Campana extractor Iluminación adecuada Ventilación adecuada Malla mosquitera Equipo de trabajo limpio	2	2	0	1
	2	0	0	1
	1	1	1	1
	1	1	1	1
	1	1	1	1
	1	0	0	0
	1	0	0	1
COMEDOR Ubicado próximo a la cocina Pisos, paredes y techos limpios y en buen estado	1	1	1	1
	2	2	2	2
SERVICIOS HIGIENICOS Ubicación adecuada Conservación y funcionamiento Limpieza Facilidades para el lavado de manos	1	1	1	1
	2	2	2	2
	1	1	1	0
	1	0	0	0
AGUA POTABLE Y DESAGÜE El agua procede de la red publica El agua procede de un tanque, pozo u otros Las condiciones de almacenamiento de agua son adecuadas Desagüe operativo	1	1	1	1
	1	0	0	0
	1	0	0	0
	1	1	1	1
	1	1	1	1
PREPARACIÓN Flujo de preparación adecuado Lavado y desinfección de vegetales Ausencia de insectos y/o roedores	1	1	0	1
	2	1	0	0
	1	0	0	1
MANIPULADOR Uniforme completo y limpio Se observa higiene personal Aplica las BPM Realiza exclusivamente su trabajo Tiene carnet sanitario	2	0	0	0
	1	0	0	0
	1	0	0	0
	1	1	0	0
	1	0	0	1

				0
TOTAL	39	19	12	25

ANEXO 02

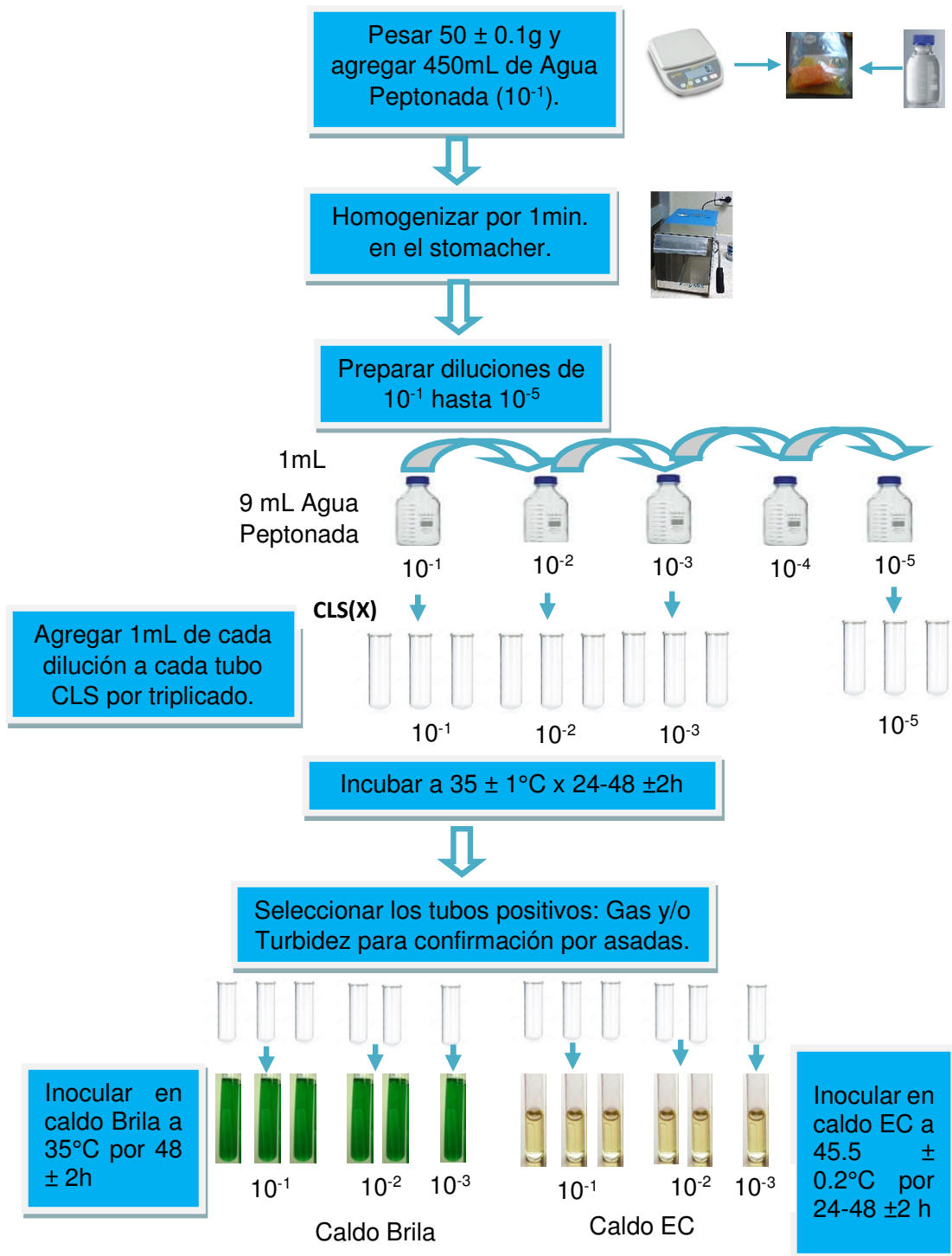
Flujograma de la metodología empleada para el recuento de microorganismos

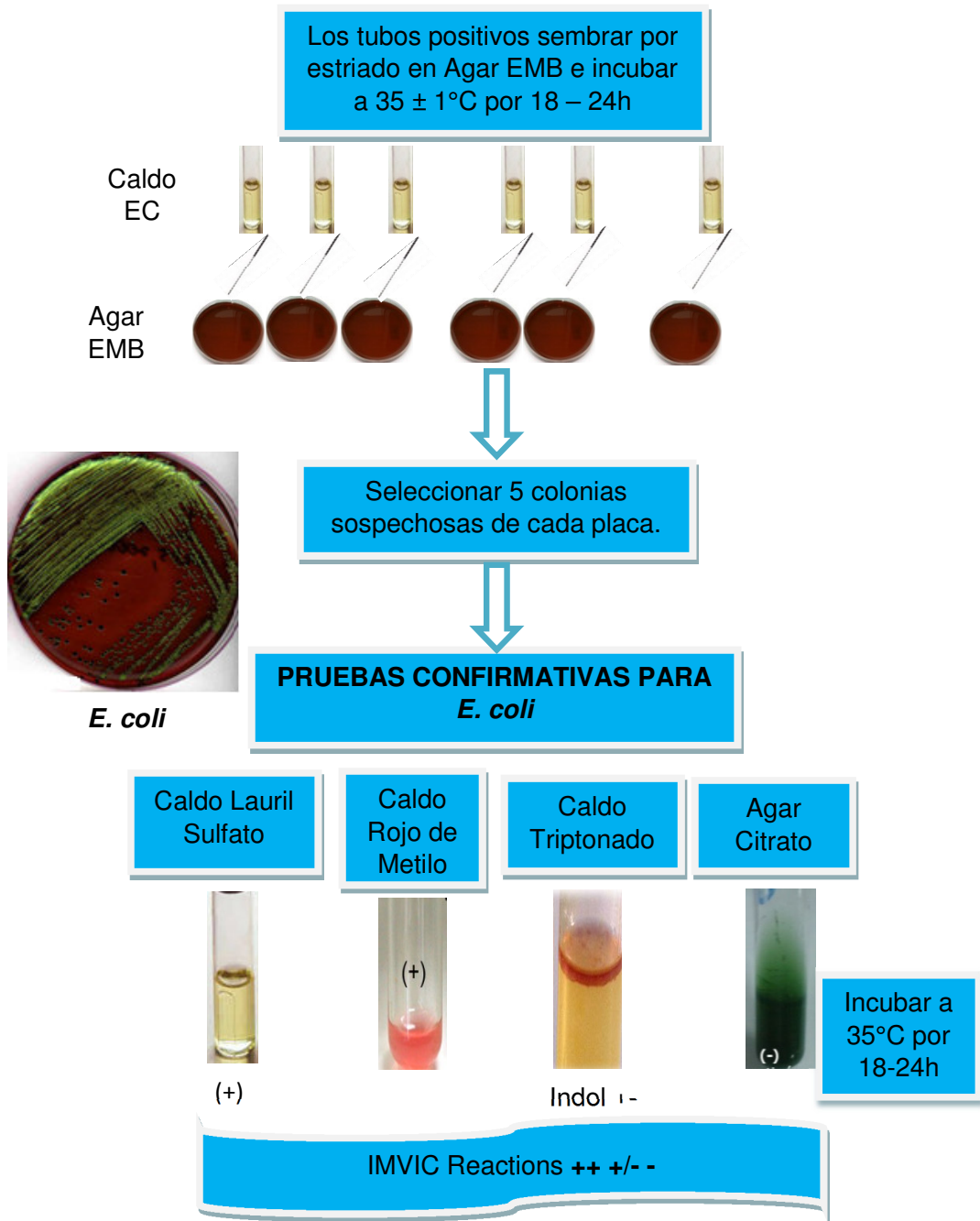
Aerobios Mesófilos de acuerdo al ICMSF. 2000.



ANEXO 03

Flujograma de la metodología empleada para el NMP de bacterias Coliformes y *Escherichia coli* de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 4. 2013

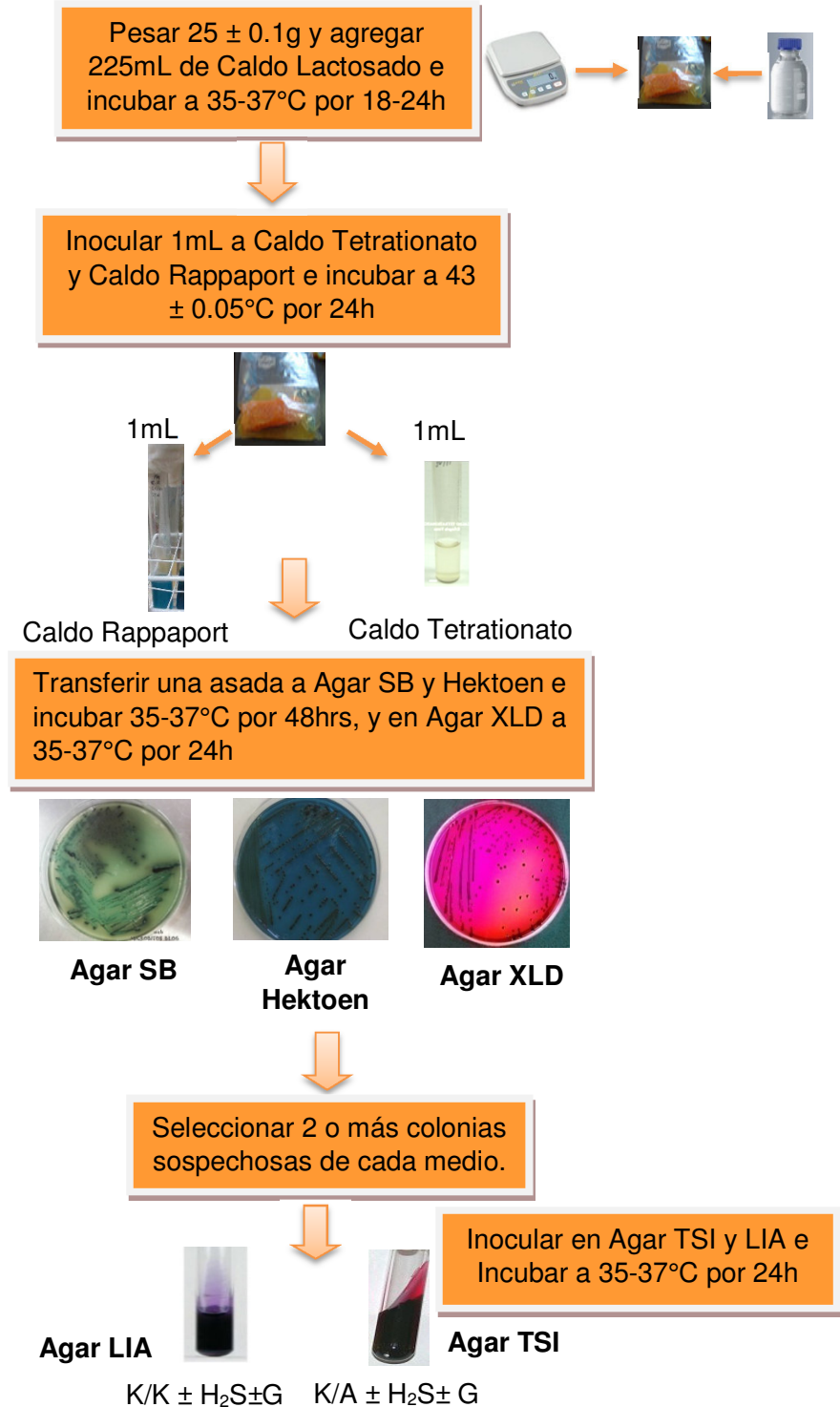


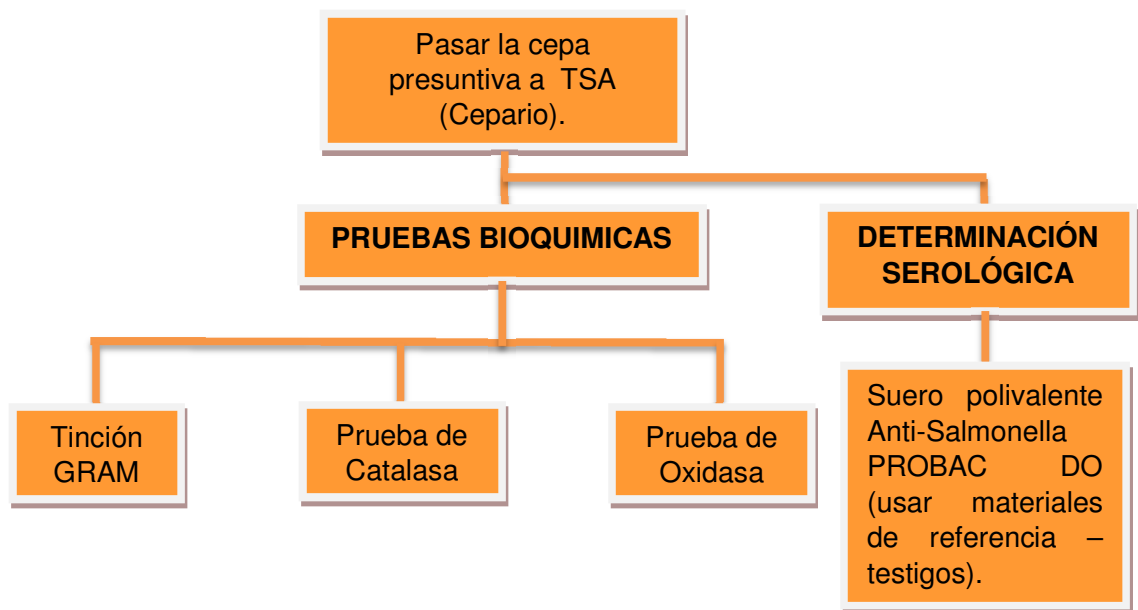


ANEXO 04

Flujograma de la metodología empleada para la detección de *Salmonella* sp. de

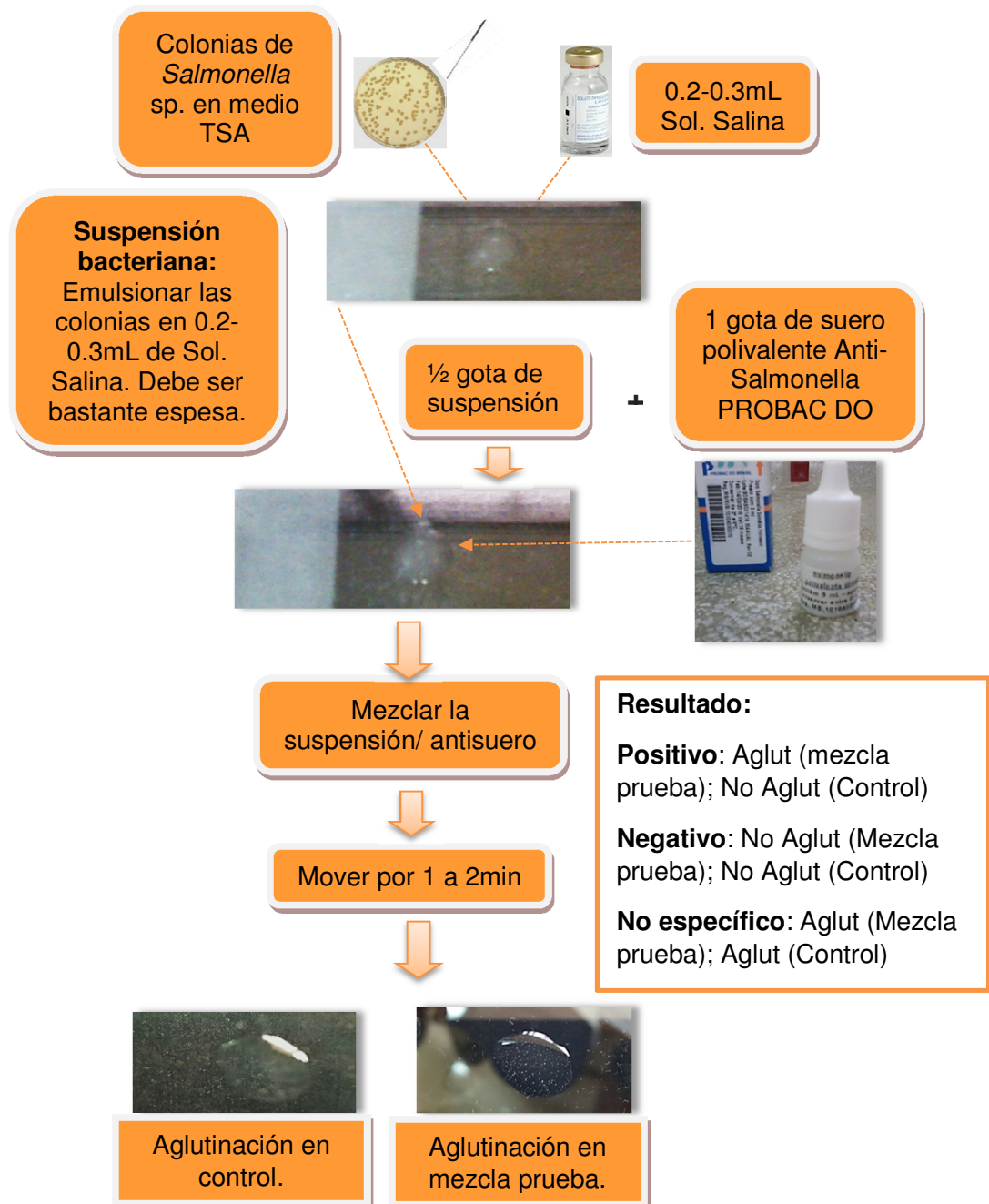
acuerdo al FDA/BAM. Chapter 5. 2016





ANEXO 05

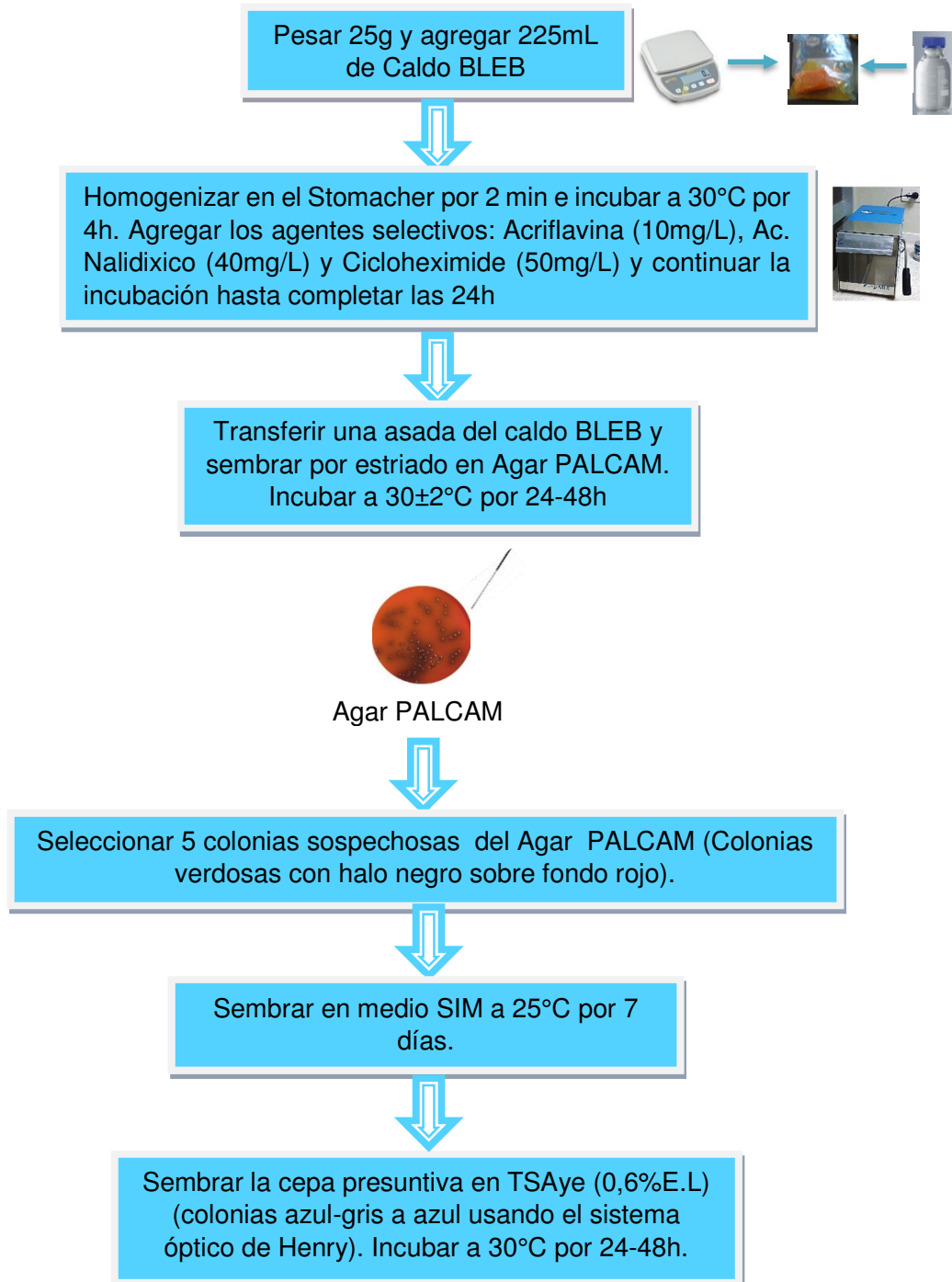
Flujograma de la técnica de aglutinación en lámina para la confirmación de *Salmonella* sp. de acuerdo a PROBAC DO

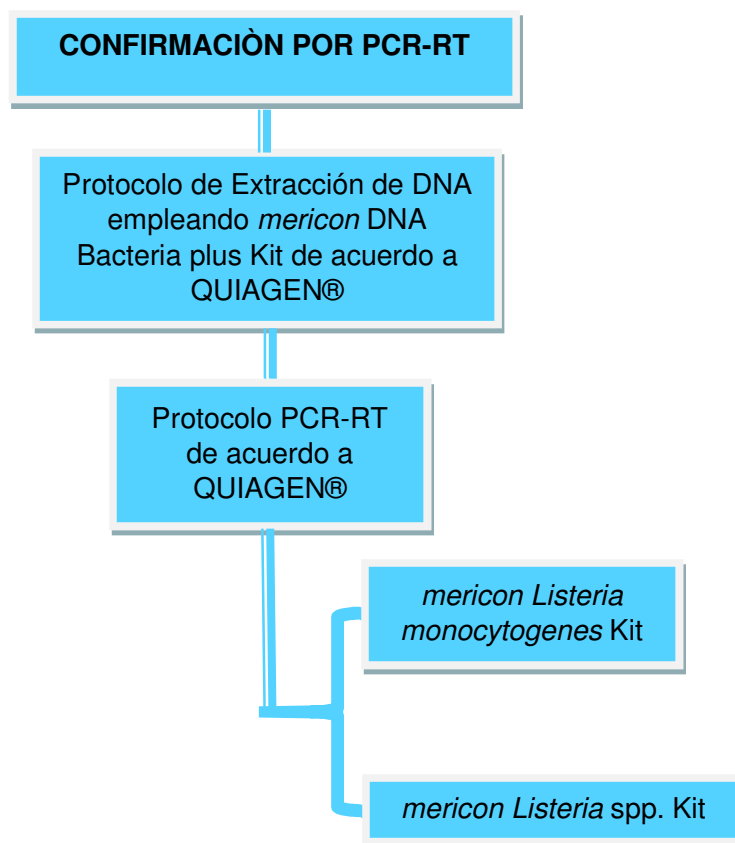
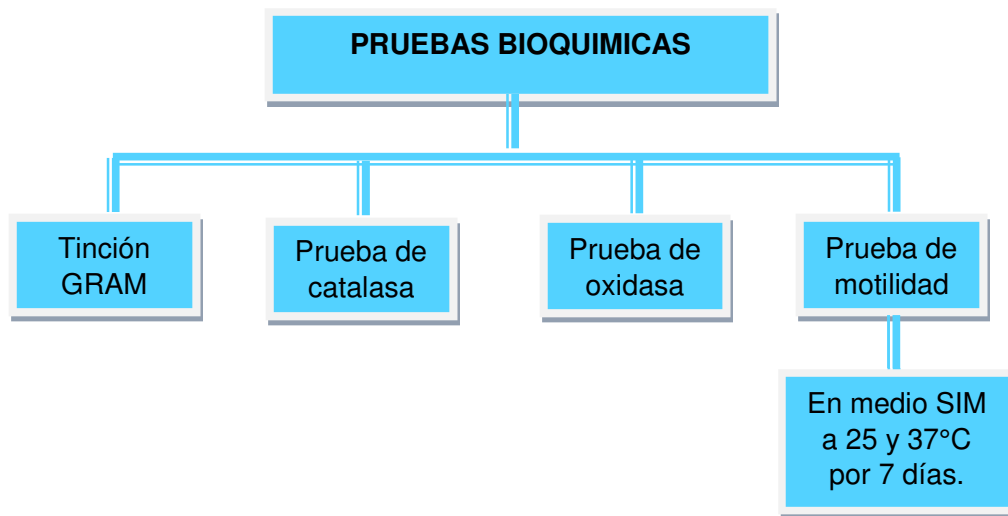


ANEXO 06

Flujograma de la metodología empleada para la detección y enumeración de

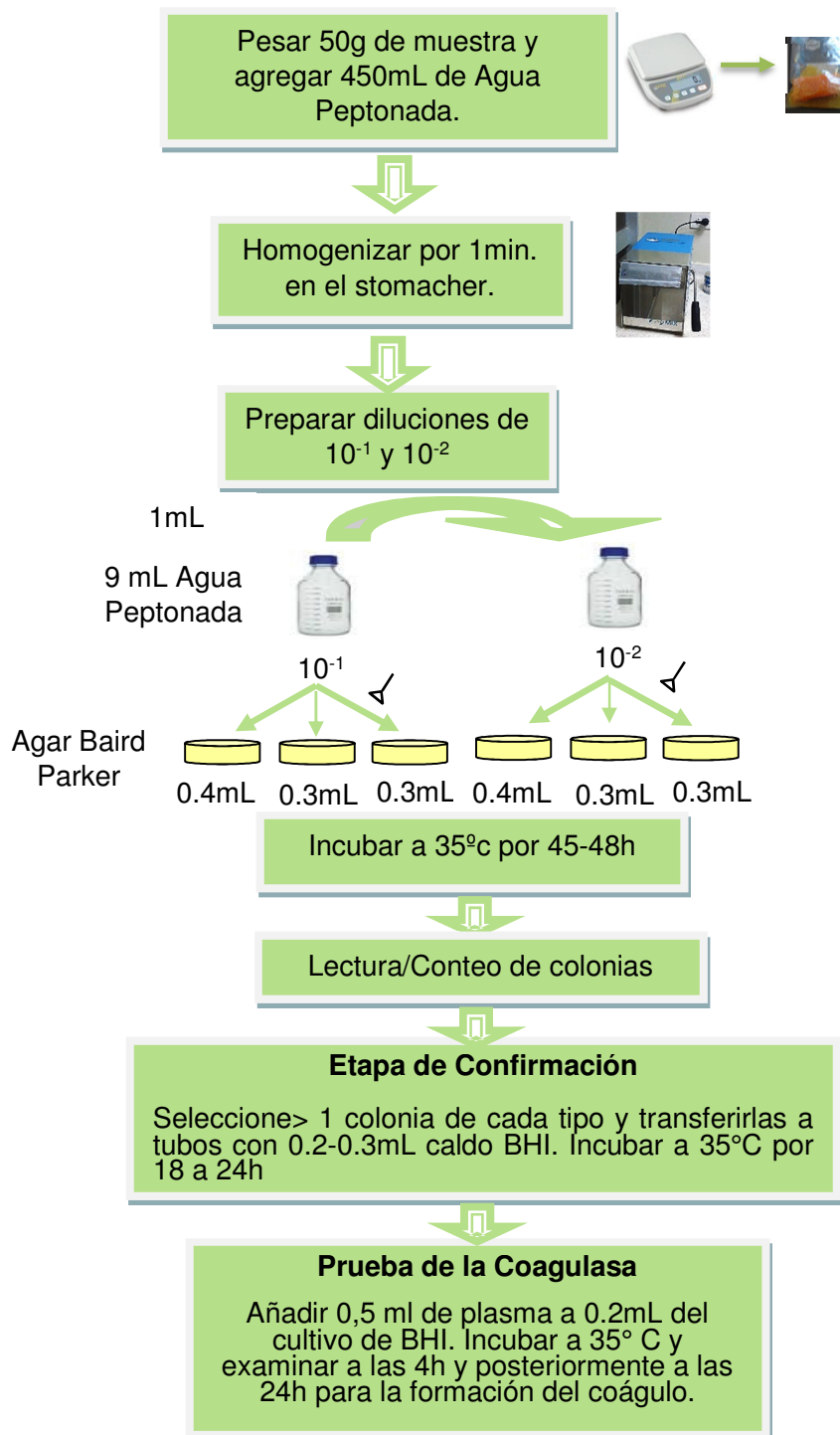
Listeria monocytogenes de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 10. 2016





ANEXO 07

Flujograma de la metodología empleada para el recuento de *Staphylococcus aureus* de acuerdo al FDA/BAM. Chapter 12. 2016



ANEXO 08

Tabla N° 31. Relación de pollerías de las que se aisló *Salmonella* sp según identificación bioquímica y confirmación serológica

Código	Pollería	Pruebas Bioquímicas					Confirmación serológica
		Gram	Catalasa	Oxidasa	TSI ^a	LIA ^b	Suero polivalente Anti-Salmonella
P3	Don Juan	-	+	-	K/A + H ₂ S	K/K	Aglutinación
P25	Entreleñas	-	+	-	K/A	K/K	Aglutinación
P26	El Volador Cajamarquino	-	+	-	K/A	K/K	Aglutinación
P34	Rolandos	-	+	-	K/A	K/K	Aglutinación
P35	El Fundo	-	+	-	K/A + G	K/K	Aglutinación
P59	Amistad	-	+	-	K/A	K/K	Aglutinación
P65	Los Cajamarquinos	-	+	-	K/A	K/K	Aglutinación
P69	Don K´RBON	-	+	-	K/A + G	K/K + G	Aglutinación
P70	Mc Ronal Chicken	-	+	-	K/A + G	K/K	Aglutinación
P76	Andrea	-	+	-	K/A	K/K	Aglutinación
P82	Doraditos	-	+	-	K/A	K/K	Aglutinación
P83	Rico Rico	-	+	-	K/A + G	K/K	Aglutinación

^aAgar hierro triple azúcar, ^bAgar xilosa lisina desoxicolato, K/A = Alcalinidad/Ácido, K/K = Alcalinidad/Alcalinidad, G = Gas.

ANEXO 09

Tabla N° 32. Identificación de las cepas de *Listeria* spp. y *Listeria monocytogenes* mediante pruebas bioquímicas

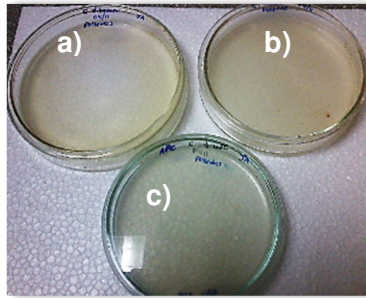
Código	Pollería	Pruebas Bioquímicas				
		Gram	Catalasa	Oxidasa	SIM ^a	
					25°C	37°C
P31	Chicken Brasa	+	+	-	+	-
P69	Don K´RBON	+	+	-	+	-
P70	Mc Ronal Chicken	+	+	-	+	-
P73	Gran Chicken	+	+	-	+	-
P74	Cantoy´s	+	+	-	+	-
P79	Entreleñas	+	+	-	+	-

^aSulfuro, Indol y Movilidad, + = móvil en forma de paraguas, - = inmóvil.

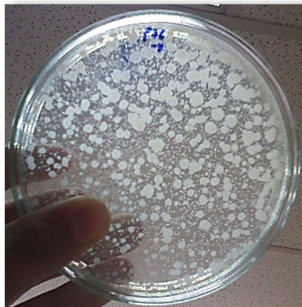
Tabla N° 33. Confirmación de las cepas de *Listeria* spp. y *Listeria monocytogenes* mediante PCR a tiempo real

Código	Pollería	PCR a tiempo real			
		<i>Listeria</i> sp.		<i>Listeria monocytogenes</i>	
		Detector patógeno (FAM) ^a	Ct ^b	Detector patógeno (FAM) ^a	Ct ^b
Control neg. ^c 1		-	0.00	-	0.00
Control neg. ^c 2		-	0.00	-	0.00
P31	Chicken Brasa	+	11.19	+	30.09
P69	Don K´RBON	+	30.19	-	0.00
P70	Mc Ronal Chicken	+	28.69	+	32.68
P73	Gran Chicken	+	30.79	-	0.00
P74	Cantoy´s	+	31.37	-	0.00
P79	Entreleñas	+	30.46	+	33.14
Control pos. ^d 1		+	32.47	+	29.31
Control pos. ^d 2		+	32.71	+	29.72
Agua		-	0.00	-	0.00

^aSonda marcada con el fluoróforo FAM indica la presencia del patógeno a detectar, + = Supera umbral, - = No supera umbral, ^bThreshold Cycle indica el ciclo en el que la fluorescencia alcanza el valor umbral, ^cControl Negativo, ^dControl Positivo.



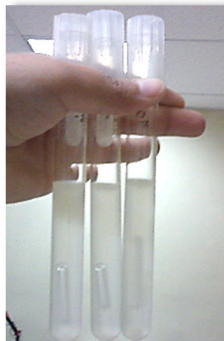
**Fig. Nº 29. Controles: a) Control Ambiental.
b) Control del medio. c) Control del diluyente.**



**Fig. Nº 30. Microorganismos Aerobios
Mesófilos en Agar Plate Count.**



**Fig. Nº 31. Tubos positivos de
Caldo Lauril Sulfato simple.**



**Fig. Nº 32. Tubos positivos
de Caldo EC.**



Fig. Nº 33. Tubo positivo de Caldo Brila.

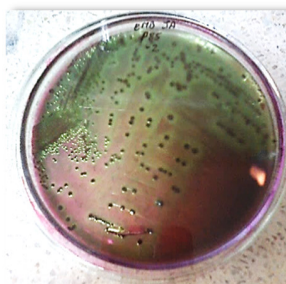


Fig. Nº 34. Colonias verdosas con brillo metálico y centro negro azulado en Agar EMB, característico de *Escherichia coli*.

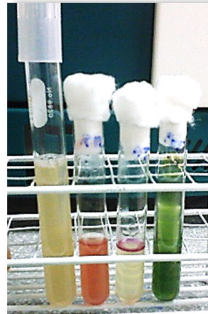


Fig. Nº 35. Pruebas Bioquímicas (Caldo lauril sulfato, Caldo rojo de metilo, Caldo triptonado y Agar citrato) para confirmación de *E. coli*, positivo a *E. coli*

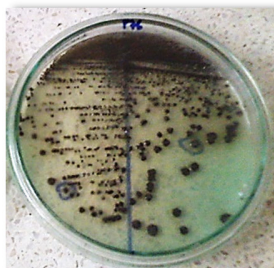


Fig. Nº 36. Colonias con centro negro con halo blanquecino y otro translucido en Agar Sulfito Bismuto, característico a *Salmonella* sp.

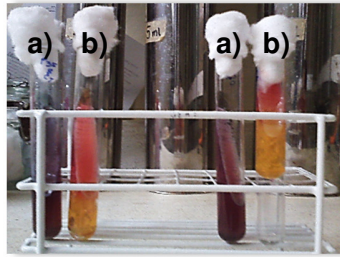


Fig. Nº 37. Pruebas bioquímicas para confirmación de *Salmonella* sp. a) LIA b) TSI, positivo a *Salmonella* sp.



Fig. Nº 38. Agar Baird Parker, colonias típicas de *Staphylococcus aureus*

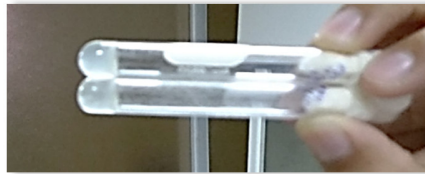


Fig. Nº 39. Prueba de la Coagulasa para *S. aureus*, Coagulasa positiva.

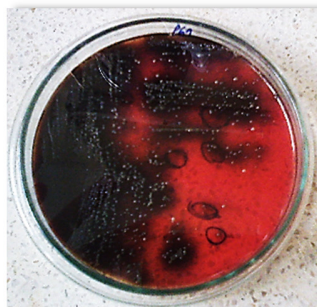


Fig. Nº 40. Colonias verdosas con halo negro en Agar PALCAM, característico a *Listeria monocytogenes*.

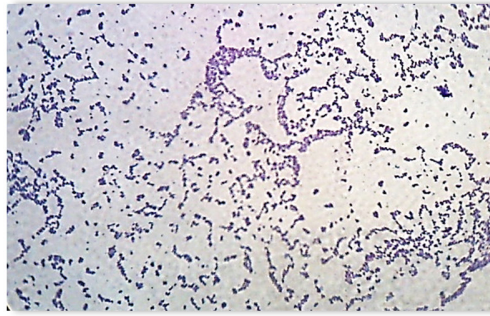


Fig. Nº 41. Bacilos cortos Gram positivos, característico a *Listeria monocytogenes*.

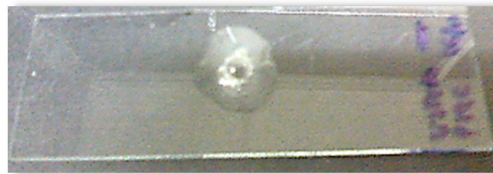


Fig. Nº 42. Catalasa positivo, característico a *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* sp.

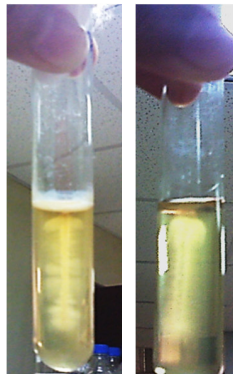


Fig. Nº 43. Motilidad en forma de “paraguas” en Medio SIM a 25°C, característico a *Listeria monocytogenes*.



Fig. Nº 44. Oxidasa negativo, característico de *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* sp.

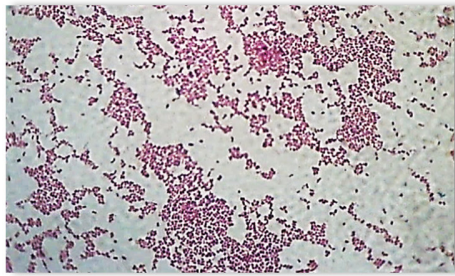


Fig. Nº 45. Bacilos Gram negativos, característico de *Salmonella* sp.



Fig. Nº 46. Aglutinación en Prueba serológica con Suero polivalente Anti-*Salmonella*



**Fig. Nº 47. a) Almacén de la pollería “El Chotano”.
b) Preparación en la pollería “Mario’s”**



**Fig. Nº 48. a) Manipulador de la pollería “Salazar”.
b) Manipulador la pollería “Pikalo’s”**

ANEXO 10

FICHA DE INSPECCIÓN HIGIÉNICO-SANITARIA DE POLLERIAS

RAZON SOCIAL O NOMBRE DEL ESTABLECIMIENTO:

DISTRITO:..... PROVINCIA:..... DEPARTAMENTO:.....

Nº DE MANIPULADORES: HOMBRES:..... MUJERES:.....

Nº	RUBROS	C	P	Nº	RUBROS	C	P
1	ALMACEN			7	MANIPULADOR		
1.1	Ordenamiento y limpieza	SI=2		7.1	Uniforme completo y limpio	SI=2	
1.2	Ambiente adecuado (seco y ventilado)	SI=2		7.2	Se observa higiene personal	SI=1	
1.3	Alimentos refrigerados (0°C a 5°C)	SI=2		7.3	Aplica las BPM	SI=1	
1.4	Alimentos congelados (-16°C a -18°C)	SI=2		7.4	Realiza exclusivamente su trabajo.	SI=1	
2	COCINA			7.5	Tiene Carnet Sanitario	SI=1	
2.1	El diseño permite realizar las operaciones con higiene (zonas previa, intermedia y final)	SI=2					
2.2	Pisos, paredes y techos de lisos, lavables, limpios, en buen estado de conservación	SI=2					
2.3	Campana extractora	SI=1					
2.4	Iluminación adecuada	SI=1					
2.5	Ventilación adecuada	SI=1					
2.6	Malla mosquitera	SI=1					
2.7	Equipo de trabajo limpio	SI=1					
3	COMEDOR						
3.1	Ubicado próximo a la cocina	SI=1					

3.2	Pisos, paredes, techos limpios y en buen estado	SI=2				
4	SERVICIOS HIGIÉNICOS PARA COMENSALES Y PERSONAL					
4.1	Ubicación adecuada	SI=1				
4.2	Conservación y funcionamiento	SI=2				
4.3	Limpieza	SI=1		TOTAL DE PUNTAJE (obtenido)	39	
4.4	Facilidades para el lavado de manos	SI=1		PORCENTAJE DEL PUNTAJE OBTENIDO	100%	
5	AGUA POTABLE Y DESAGÜE					
5.1	El agua procede de la red pública.	SI=1		FECHA		
5.2	El agua procede de un tanque, pozo u otros (indicar procedencia).	SI=1		INSPECTOR:		
5.3	Las condiciones de almacenamiento de agua son adecuadas. Los depósitos (cisternas y/o tanques) se encuentran en buen estado de mantenimiento y limpieza.	SI=1				
5.4	Desagüe operativo	SI=1		75% al 100%:ACEPTABLE		
6	PREPARACIÓN			51 al 74% : EN PROCESO		
6.1	Flujo de preparación adecuado	SI=1		MENOR al 50% : NO ACEPTABLE		
6.2	Lavado y desinfección de vegetales.	SI=2				
6.3	Ausencia de insectos y/o roedores.	SI=1				
OBSERVACIONES						

ANEXO 11

FICHA DE RESULTADO DEL ENSAYO MICROBIOLÓGICO

Muestra :
Procedencia :
Código de la muestra :
Fecha y hora de muestreo :
Fecha y hora de inicio de ensayo :
Fecha y hora de término de ensayo :

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO		
ANÁLISIS	RESULTADO	LÍMITE PERMISIBLE*
Recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos ¹		10 ⁵ UFC/g
Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> ²		10 UFC/g
Numeración de Coliformes totales ³		10 ² NMP/ g
Numeración de <i>Escherichia coli</i> ³		10 NMP/ g
Detección de <i>Salmonella</i> sp ⁴		Ausencia/25 g
Detección de <i>Listeria monocytogenes</i> ⁵		Ausencia/25 g

METODOLOGÍA

1. ICMSF Vol. 1. 120-124. 2000. Recuento de Microorganismos Aerobios Mesófilos.
2. FDA/BAM. Chapter 12. 2016. Recuento de *Staphylococcus aureus*.
3. FDA/BAM. Chapter 4. 2013. Método del número más probable (NMP) para Coliformes y *Escherichia coli*.
4. FDA/BAM. Chapter 5. 2016. Detección de *Salmonella* sp.
5. FDA/BAM. Chapter 10. 2016. Detección de *Listeria monocytogenes*.

I.CALIFICACIÓN:

II. INTERPRETACIÓN: